

Année 1933-1934

N° 17

AGGLUTINATION DU PROTEUS

DANS

LE TYPHUS EXANTHÉMATIQUE DU COBAYE

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de
Docteur de l'Université de Paris (Pharmacie)
présentée et soutenue le 4 Juillet 1934

PAR

ROGER DURAND

JURY { MM. COUTIÈRE, *Président.*
LAUNOY, *Professeur.*
BACH, *Agrégé.*

TUNIS
IMPRIMERIE J. ALOCCIO, 6, RUE D'ITALIE

1934

Année 1933-1934

N° 17

AGGLUTINATION DU PROTEUS

DANS

LE TYPHUS EXANTHÉMATIQUE DU COBAYE

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de
Docteur de l'Université de Paris (Pharmacie)
présentée et soutenue le 4 Juillet 1934

PAR

ROGER DURAND

JURY { MM. COUTIÈRE, *Président.*
LAUNOY, *Professeur.*
BACH, *Agrégé.*

TUNIS
IMPRIMERIE J. ALOCCIO, 6, RUE D'ITALIE

—
1934



PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

Administration

MM. GUÉRIN, O. *, ☉ I.....	Doyen.
P. LEBEAU, O. *, ☉ I..	Assesseur.
P. DESPORT, *, ☉ I....	Secrétaire.

Professeurs

MM. GUÉRIN, O. *, ☉ I.....	Botanique générale.
BÉHAL, Membre de l'Institut, G. O. *, ☉ I.....	Chimie organique.
PERROT, O. *, ☉ I.....	Histoire naturelle des médicaments.
COUTIÈRE, O. *, ☉ I.....	Zoologie.
LEBEAU, O. *, ☉ I.....	Pharmacie chimique.
BOUGAULT, *, ☉ I.....	Chimie analytique.
GORIS, *, ☉ I.....	Pharmacie galénique.
TASSILLY, O. *, ☉ I.....	Physique.
DAMIENS, *, ☉ I.....	Chimie minérale.
HÉRISSEY, O. *, ☉ I.....	Chimie biologique.
SOMMELET, *, ☉ I.....	Hydrologie et Hygiène.
LUTZ, *, ☉ I.....	Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, *, ☉ I.....	Toxicologie.
LAUNOY, O. *, ☉ I.....	Professeur sans chaire.

Doyen honoraire : M. RADAIS, O. *, ☉ I.

Professeurs honoraires : MM. DELÉDINE, O. *, ☉ I, et GUERBET, *, ☉ I.

Chargés de cours

MM. Marc HONNORAT, *, ☉ I.....	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LAUNOY, O. *, ☉ I.....	Pharmacodynamie.
DELABY, *, ☉ I.....	Minéralogie.
PICON, ☉ I.....	Chimie minérale.
BACH, ☉ I.....	Microbiologie.

Agrégés en exercice

MM. DELABY, *, ☉ A.	MM. BACH, ☉ I.
PICON, ☉ I.	BEDEL, ☉ I.
MASCRÉ, ☉ I.	RÉGNIER, ☉ I.
FLEURY, ☉ I.	

Chefs des travaux pratiques

MM. BEDEL, ☉ I, agrégé..	Chargé des T. P. de 1 ^{re} année : Chimie générale.
FLEURY, ☉ I, agrégé. }	Chargés des travaux de Chimie analytique.
REGNIER, ☉ I, agrégé. }	
SOUÈGES, ☉ I.....	
LEROUX, ☉ I.....	
DEVAL, *, ☉ I.....	Micrographie.
DELABY, *, ☉ I, agr.	Physique.
PICON, ☉ I, agrégé..	Microbiologie.
MASCRÉ, ☉ I, agrégé. }	Chargés des travaux généraux de 4 ^e année.

Bibliothécaire en chef : M. BERNARD, ☉ I.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551406_0036

A MES PARENTS

AU DOCTEUR CHARLES NICOLLE

MEMBRE DE L'INSTITUT

PROFESSEUR AU COLLÈGE DE FRANCE

DIRECTEUR DE L'INSTITUT PASTEUR DE TUNIS

PRIX NOBEL DE MÉDECINE 1928

*qui nous inspira le sujet de cette thèse et facilita
grandement notre tâche en nous prodiguant ses con-
seils éclairés.*

*Que ce cher Maître veuille bien trouver, ici, la
marque de notre profonde admiration et l'assurance
de notre respectueux attachement,*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR H. COUTIÈRE

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

*que nous remercions vivement du grand honneur
qu'il nous a fait en acceptant la présidence de cette
thèse. Nous lui demandons de croire à notre respec-
tueuse gratitude.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LAUNOY

*En remerciement de l'extrême obligeance qu'il
daigna nous témoigner.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BACH

Qu'il trouve ici l'hommage respectueux de notre reconnaissance pour les judicieux conseils et l'appui qu'il a bien voulu nous apporter dans l'élaboration de cette thèse.

A MONSIEUR LE DOCTEUR JEAN LAIGRET

CHEF DE LABORATOIRE A L'INSTITUT PASTEUR DE TUNIS

Nous n'oublierons jamais l'enseignement bactériologique qu'il nous prodigua avec indulgence et bonté durant notre séjour à l'Institut Pasteur de Tunis.

Les mots ne pourront lui exprimer que bien faiblement toute notre reconnaissance pour les innombrables preuves de sollicitude bienveillante et spontanée dont il nous a toujours comblés, mais nous serions heureux qu'il veuille bien accepter l'hommage de ce modeste travail.

AU DOCTEUR CHARLES ANDERSON
SOUS-DIRECTEUR DE L'INSTITUT PASTEUR DE TUNIS

AU DOCTEUR LUCIEN BALOZET
SOUS-DIRECTEUR DE L'INSTITUT PASTEUR DE TUNIS

AUX DOCTEURS JEAN BANCE, PAUL DURAND, HÉLÈNE SPARROW
CHEFS DE LABORATOIRE A L'INSTITUT PASTEUR DE TUNIS

*En remerciement de l'aimable accueil qu'ils nous
réservèrent toujours dans leurs services.*

AU DOCTEUR HECTOR DIACONO

PHARMACIEN SUPÉRIEUR

DIRECTEUR DU LABORATOIRE RÉGIONAL DE SOUSSE

AU MÉDECIN-CAPITAINE GEORGES LE MER

CHEF DE LABORATOIRE A L'HÔPITAL MILITAIRE DE TUNIS

AU DOCTEUR PAUL GIROUD

CHEF DE LABORATOIRE A L'INSTITUT PASTEUR DE PARIS

CHAPITRE PREMIER

GÉNÉRALITÉS SUR LA RÉACTION DE WEIL ET FELIX

En 1915 [64], Weil et Felix isolaient, à Constantinople, de l'urine d'un typhique, un germe, appartenant au groupe des proteus et qui était agglutiné, non seulement par le sérum du malade, mais encore par le sérum de tous les autres typhiques; ils l'appelèrent X2. Continuant l'isolement de microbes à partir des urines et du sang des malades atteints de typhus, ils obtinrent une autre souche qui présentait la propriété d'être encore plus fortement agglutinée : ce fut le *Proteus* X19.

Ces données, établies par les auteurs, furent reprises de toutes parts et les résultats, obtenus par Weil et Felix, furent confirmés en Allemagne par Dietrich [10], Epstein et Morawetz [13], Sachs [52], Vitecek [60], St. et K. Sterling [59], R. Hamburger et R. Bauch [19], George Wolff [69], ainsi qu'en France, en Pologne, en Espagne, presque en même temps.

Actuellement, la réaction de Weil et Felix est considérée comme la méthode de choix pour donner sûrement et rapidement la preuve de l'infection typhique, pour déceler les cas atypiques bénins, se présentant quelquefois chez l'adulte et plus fréquemment chez l'enfant, et pour établir un diagnostic rétrospectif chez les convalescents.

*
* *

On a reproché à la réaction Weil et Felix son manque de spécificité et la possibilité d'une polyagglutination, due à la présence, dans le sérum des malades, atteints d'affections autres que le typhus, d'agglutinines hétérologues pouvant donner une réaction positive en dehors de toute infection typhique.

Felix a montré que le *Proteus* X 19 possède, en vérité, 2 antigènes, dont l'un, l'antigène II, est commun à la plupart des *Proteus vulgaris*,

landis que l'autre, l'antigène O, propre et particulier aux *Proteus* X, est seul agglutiné par le sérum des typhiques.

Cette forme particulière O, Félix l'a constatée dans les vieilles cultures des *Proteus* X; les colonies deviennent glaireuses, épaisses et n'envahissent pas la surface de la gélose, comme le font les colonies de *Proteus vulgaris*: il leur a donné le nom de colonies O de « OHNE », par opposition aux colonies H, de « HAUCH ». En outre, ce savant a remarqué que les bacilles proteus dans les formes O ne possèdent plus de cils ou n'en possèdent plus qu'un seul. Nous pouvons, en français, interpréter les expressions de Felix en disant que les bacilles de forme O donnent des colonies séparées « sans » envahir la gélose, tandis que les bacilles de la forme H donnent un enduit lisse, brillant et uniforme par suite de l'envahissement du milieu gélosé.

Braun [3 et 4], considère cette forme O comme une « Hungerform » ou forme de dégénérescence; Wolff [70], comme une « Daurform » ou forme âgée. En dehors de l'aspect particulier que prennent les formes O dans les cultures et la disparition des cils du *Proteus* X 19, la différence entre les deux antigènes H et O s'accroît par d'autres données expérimentales.

Schiff et Nathorff [55], ont constaté que la forme H est très hémolytique, tandis que la forme O ne l'est pas ou du moins très peu.

Félix, d'autre part, a remarqué que les agglutinines anti O sont rapidement détruites entre 60 et 63°, tandis que les agglutinines anti H sont beaucoup plus thermostables: le même auteur affirme que l'agglutination, effectuée avec les formes O, se présente en fins grumeaux, tandis qu'avec les formes H, l'agglutination est floconneuse. Enfin, les formes O s'agglutinent plus lentement, mais à un taux beaucoup plus élevé.

Il explique ainsi les causes d'erreur déterminant la positivité de sa réaction en dehors de toute autre infection.

« Le *Proteus* X 19, écrit-il [2], peut donner une agglutination avec son antigène H, si l'agglutinine correspondante H est présente dans les humeurs. Ces agglutinines, quelquefois rencontrées dans le sérum d'individus bien portants ou de malades souffrant d'une autre maladie que le typhus, sont dues à l'existence du bacille proteus vulgaris ou à une infection antérieure avec le même bacille (otite, cystite, néphri-

te, etc.) et, comme un grand nombre de souches de *Proteus vulgaris* possède un antigène H commun avec la souche de *Proteus* X 19, il est évident qu'un taux élevé d'agglutination H avec le X19 constituera une importante source d'erreur dans la réaction de Weil et Felix ».

C'est pour obvier aux causes d'erreur, énoncées par Felix, que ce dernier recommande l'emploi exclusif des colonies O pour effectuer sa réaction.

La propriété particulière que possède le sérum des typhiques d'agglutiner le *Proteus* OX 19 se retrouve aussi bien chez les individus atteints de typhus historique que chez ceux atteints de typhus murin : la réaction apparaît entre le 5^e et le 10^e jour de fièvre et elle va s'accroissant pour atteindre parfois un taux extrêmement élevé et qui ne se rencontre guère que dans cette réaction. Elle diminue ensuite lentement au cours de la convalescence et persiste longtemps, quelquefois pendant un ou deux ans.

Tous les auteurs sont d'accord pour reconnaître que la réaction est positive dans presque la totalité des cas de typhus : l'absence totale d'agglutinines pendant la durée de la maladie est considérée comme un fait exceptionnel et se présente seulement dans des cas de sévérité extrême qui se terminent, en général, par la mort. C'est sur cette constatation que Zlocisti [71], a été amené à proposer l'usage de la réaction de Weil et Felix comme un moyen auxiliaire de pronostic.

*
**

Le groupe des fièvres exanthématiques comprend un certain nombre de maladies humaines dont le typhus de l'Ancien monde ou typhus historique, est le type le mieux connu. Nous savons que son diagnostic sérologique s'obtient par l'agglutination du *Proteus* X 19.

En Malaisie, il existe deux typhus : le typhus des villes donnant une réaction positive avec le *Proteus* X 19 et le typhus rural à réaction positive avec le *Proteus* de Kingsbury ou *Proteus* XK. Ce *proteus* avait été fourni, en 1921, par la « National collection of type cultures », comme souche typique de X 19. Transporté, en 1923, par Kingsbury dans la Péninsule malaise, il a servi à Fletcher pour démontrer la nature typhique de la fièvre endémique de la campagne

malaise. Plus tard, Fletcher a constaté que le *Proteus* XK se différenciail de la souche X 19 originelle par ses caractères de culture (absence d'indol, absence de fermentation du saccharose et du maltose); elle s'identifie au *Proteus* X par son comportement à l'égard des sérums; par contre, la souche Kingsbury, comparée aux autres souches non indologènes, a les mêmes caractères de culture, mais des réactions sérologiques toutes différentes.

La Fièvre fluviale du Japon ou Tsutsugamushi, maladie grave, mortelle pour l'européen, bénigne pour l'indigène, par suite d'une atteinte antérieure souvent inapparente chez les enfants, se range aussi dans le groupe des fièvres exanthématiques. Le sérum des malades agglutinerait, d'après A. Felix, le *proteus* de Kingsbury.

Une autre maladie grave de l'homme, la Fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses, peut être sérologiquement diagnostiquée par la propriété que possède le sérum des malades d'agglutiner le X19, le X 2 ou le *Proteus* XK.

La fièvre boutonneuse, découverte en Tunisie, retrouvée à Marseille et dans tout le bassin méditerranéen; le diagnostic sérologique s'obtient tantôt avec le *Proteus* X 19 tantôt avec le *Proteus* X 2.

Enfin le typhus de Sao Paulo (Brésil) qui est une maladie très grave voisine de la Fièvre pourprée; le sérum des malades agglutine tout particulièrement un *proteus*, récemment isolé par Carvalho Lima : le *Proteus* XL [16].

*
* *

Les divers typhus [32], confèrent aux animaux guéris une immunité, valable à la fois contre eux-mêmes et contre les autres virus typhiques.

Ch. Nicolle et Jean Laigret [38], utilisant le virus africain, entretenu à l'Institut Pasteur de Tunis depuis 8 ans, et 2 virus murins, l'un de Mexico, l'autre de Toulon, ont vu que, d'une façon générale, les trois virus vaccinent contre eux-mêmes et les uns contre les autres. Pousant plus loin leur étude de l'immunité croisée entre les virus typhiques propres et le virus d'une autre maladie, rangée dans le groupe des fièvres exanthématiques, la Fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses, ils ont constaté une grande différence dans l'activité du pou-

voir préventif des virus [39]. Le virus mondial, de même que les virus murins n'immunisent pas le cobaye contre une infection ultérieure avec le virus de la fièvre pourprée et ces caractères séparent complètement les propriétés antigéniques des deux virus.

D'autre part, Et. Burnet, Paul Durand et D. Olmer [5] ont montré qu'une première atteinte par le virus boutonneux n'immunise pas le cobaye contre une seconde infection avec les virus typhiques, mondial ou murin. La fièvre boutonneuse est donc, par son pouvoir antigénique préventif, différente des virus typhiques les mieux connus.

Si nous cherchons à établir une relation entre les épreuves d'immunité croisée et les réactions sérologiques, obtenues avec les différents types de proteus X, utilisés pour le diagnostic des infections typhiques, nous voyons, dans ce tableau, emprunté à la remarquable étude de A. Felix (ouvrage cité), qu'il existe une relation étroite entre les caractères antigéniques des virus et leurs propriétés immunisantes.

NOM DE LA MALADIE	LOCALITE	AGENT TRANSMET- TEUR	AGGLUTINATION AVEC			PRINCIPAL ANTIGÈNE des virus	IMMUNITÉ CROISÉE avec typhus historique
			OX 19	OX 2	OXK		
Typhus historique	Est européen Tunis	poux	+++	+	O	OX 19	positive
Tabardillo.....	Mexico	poux et puces de rat	+++	?	O	OX 19	positive
Typhus endémique E. U.....	Sud-Est de l'Amérique	puces de rat	+++	?	O	OX 19	positive
Fièvre nautique...	Toulon	puces de rat	+++	?	O	OX 19	positive
Fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses.....	Ouest E.U.	tiques	+	+	+	inconnu	négative
Fièvre boutonneu- se.....	Marseille Tunis	tiques	+	+	?	inconnu	négative

Nous voyons, par exemple, qu'entre deux typhus, comme le typhus endémique des États-Unis et le typhus historique, il existe des propriétés antigéniques communes — agglutination très nette avec O X19 et seulement avec O X19 — et qu'en même temps les épreuves d'immunité croisée sont positives dans les 2 sens, c'est-à-dire qu'un animal, ayant subi une première atteinte de typhus historique, sera immunisé contre la maladie de Brill et vice-versa; alors que la fièvre boutonneuse et le typhus mondial ne possèdent aucune similitude antigénique et que les épreuves d'immunité croisée sont nettement négatives.

Nous pouvons donc dire qu'à ce jour les épreuves d'immunité croisée n'ont été obtenues qu'avec des virus qui possèdent le même antigène que celui du virus mondial c'est-à-dire l'antigène O du type X19. Si, d'autre part, les épreuves d'immunité croisée sont négatives avec le virus de la fièvre pourprée et celui de la boutonneuse, c'est que leurs propriétés antigéniques sont entièrement différentes, comme le démontre l'absence d'un antigène propre, semblable à l'antigène O du *Proteus* X 19 dans le typhus historique ou les typhus murins.

Si nous poussons plus loin l'examen de ce tableau, nous voyons, d'après Spencer et Maxey [58], et Davis et Parker [8], que, dans la Fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses les réactions d'agglutination, effectuées avec le sérum des malades, ressemblent quelque peu à celles obtenues dans la fièvre boutonneuse; ces auteurs ont vu, en outre, que le virus de la boutonneuse est capable, dans une certaine mesure, d'immuniser les animaux contre une atteinte secondaire par la Fièvre pourprée.

Aussi, dans l'état actuel de nos connaissances sur les rapports des fièvres exanthématiques entre elles, nous pouvons dire que les épreuves d'immunité croisée, entre les différentes variétés de virus typhique, s'accompagnent d'une identité des réactions sérologiques vis-à-vis des *Proteus* X, alors qu'un échec dans l'obtention d'une immunisation coïncide avec une dissimilitude dans les réactions d'agglutination.

L'accord entre les épreuves d'immunité croisée et la sérologie des fièvres exanthématiques nous apparaît encore plus étroit si nous

admettons la séduisante hypothèse de Ch. Nicolle [33], sur l'origine des typhus.

Ch. Nicolle pense qu'à l'origine de ce groupe d'infections il aurait existé un ancêtre commun, qu'il situe dans les terriers des petits rongeurs sauvages, un virus unique, pathogène d'abord pour les rongeurs, mais qui, élargissant son aire géographique et transmis accidentellement à l'homme par des parasites cuticoles auxquels il se serait adapté, aurait peu à peu évolué et se serait différencié au cours des siècles en des souches secondaires, dissemblables entre elles par certains caractères accessoires, mais demeurés cependant très proches les unes des autres, souches secondaires dont chacune est devenue la cause déterminante d'une des maladies humaines que nous groupons sous le nom de fièvres exanthématiques [23].

Nous voyons donc le rapport étroit qui existe entre l'expérimentation et la sérologie des typhus : d'une part, conception d'une origine commune des fièvres exanthématiques avec différenciation ultérieure en divers types et, d'autre part, à partir d'un même microble, le proteus, formation de variants correspondant aux diverses variétés de typhus. Il est impossible qu'il y ait là une coïncidence.

On ne peut expliquer que par des hypothèses l'agglutination des proteus au cours de l'infection typhique. Weil et Felix [65], ont émis l'idée que les souches X de proteus étaient la forme visible, non pathogène, des virus typhiques invisibles. Cette hypothèse était basée sur le fait que, d'abord, l'action antigénique du virus produisait des anticorps et des agglutinines pour la souche X 19 et, d'autre part, que les souches X avaient toujours été isolées à partir des organes, du sang ou de l'urine de malades atteints de typhus exanthématique [61, 62, 63].

L'hypothèse de Weil et Felix est séduisante, mais l'identité entre les virus typhiques et les Proteus X n'a pas encore été établie d'une manière probante. Le phénomène inconnu de l'agglutination du proteus n'enlève aucune valeur à la réaction de Weil et Felix qui reste la méthode de choix pour le diagnostic de l'infection typhique; spécifique, sa constance se vérifie avec tous les typhus chez l'homme et chez les animaux.

Le singe répond, comme l'homme, à l'infection typhique; après une

incubation de 8 à 10 jours, il fait une courbe fébrile se terminant par une brusque défervescence et une hypothermie de quelques jours : il produit, comme l'homme, des agglutinines vis-à-vis des *Proteus* X, à un taux élevé.

Le rat, nous parlons de la variété albinos employée dans les laboratoires d'expérience, réagit différemment selon le typhus avec lequel on l'inocule; dans le cas d'un virus murin, le rat réagit par une fièvre de quelques jours, suivie d'hypothermie : on trouve, dans son sérum, des agglutinines pour le X19 et pour les proteus agglutinables. Dans le cas du typhus historique, il fait une infection inapparente, sans fièvre, transmissible à un autre animal; il produit également des agglutinines à un taux élevé.

Le lapin fait une infection inapparente, avec le typhus murin comme avec le typhus mondial; il réagit en produisant des agglutinines vis-à-vis du *Proteus* X 19.

Le cobaye est le réactif de choix pour l'étude des fièvres exanthématiques et la conservation des virus. Le typhus historique du cobaye, comme l'a montré Ch. Nicolle [34], consiste presque uniquement dans une fièvre, analogue à celle que l'on observe chez l'homme. L'incubation n'est jamais inférieure à 5 jours; la fièvre qui dure 4 à 12 jours est toujours suivie d'une hypothermie passagère.

Dans les laboratoires de recherche, l'entretien des virus typhiques est obtenu par passages de cobaye à cobaye : le cerveau et les capsules surrénales sont les organes les plus virulents. La matière cérébrale est prélevée au début de l'infection, généralement au 2^e ou 3^e jour de fièvre, finement broyée, émulsionnée en eau physiologique et inoculée dans la cavité péritonéale de cobayes neufs. Il peut arriver qu'un des cobayes inoculés ne présente aucune élévation de température, tandis que les animaux du même passage réagissent par la courbe fébrile habituelle; or, si l'on sacrifie ce cobaye au moment où les animaux témoins sont en pleine infection typhique et si on inocule son cerveau à d'autres cobayes neufs, on constate que ces derniers font un typhus net, se traduisant par la courbe fébrile connue. Les organes du cobaye qui n'a pas réagi sont donc virulents; en dehors de toute fièvre, seule la virulence des organes est le signe de l'infection. C'est de cette constatation qu'est sortie la conception des

« infections inapparentes » (Ch. Nicolle et Lebaillly [40]). Au point de vue anatomo-pathologique, Doerr [41], a retrouvé, chez le cobaye, des lésions du cerveau, semblables à celles qui ont été décrites chez l'homme.

Les virus murins, chez le cobaye, déterminent, comme le virus historique, une élévation de température; l'incubation est généralement diminuée; la courbe fébrile moins prononcée; de plus, Neil [31] a constaté un gonflement scrotal chez les cobayes mâles. Cette remarque a été confirmée et étudiée par H. Mooser [27-28-29] qui l'a retrouvée chez 90 % des animaux mâles, inoculés de virus murin. Ces animaux, cobayes ou rats, présentent une rougeur et un gonflement du scrotum, dûs à des lésions spécifiques, localisées à la tunique vaginale et aux testicules. Dans les frottis d'exsudat de la vaginale, les cellules sont bourrées de petits éléments bacillaires appelés *Rickettsia Prowazeki* du nom des auteurs qui les ont mis en évidence. Ces *Rickettsia* ont été signalés pour la première fois par Ricketts et Wilder [48-49] en 1910, dans le tube digestif des poux prélevés sur des malades atteints de typhus. Provazek et da Rocha Lima les retrouvèrent en 1913 et ils les virent même dans le sang et les organes des typhiques; da Rocha Lima, en 1916, en faisait l'agent causal du typhus et leur donnait leur appellation actuelle. Ce sont des cocco-bacilles de 0,2 à 0,3 μ de long., prenant souvent une forme diplo-bacillaire, non cultivables sur les milieux usuels et se colorant par le Giemsa.

La relation entre ces petits éléments et le typhus fut niée par certains auteurs qui les retrouvèrent dans les intestins de poux non infectés et nourris sur des malades non typhiques. Mais, d'après Rocha Lima, il existerait plusieurs sortes de *Rickettsia* qui se distingueraient suivant leur localisation : tandis que les *Rickettsia Prowazeki* seraient initialement intracellulaires, inclus dans les cellules endothéliales de l'intestin [57], ce n'est qu'à la faveur de leur multiplication, provoquant la rupture de ces cellules qu'ils pénétreraient dans la cavité intestinale, les autres espèces de *Rickettsia*, comme *Rickettsia pediculi* ou *Rickettsia quintana* sont exclusivement extracellulaires.

Ces caractères, ainsi que certaines petites différences morphologiques et tinctoriales, les distingueraient de *Rickettsia Prowazeki*,

Mooser (ouv. cit.), Pinkerton [44], et Maxcy [25-26] décrivirent la présence de petits coccobacilles dans les cellules endothéliales de la tunique vaginale des cobayes et des rats mâles, inoculés avec un typhus murin, et Weigl prouva, par des faits précis, que les *Rickettsia* se développaient dans l'intestin des poux expérimentalement infectés par voie anale, au moyen d'un matériel typhique (sang virulent, broyat d'organes, etc.). Mais il est un fait important qui dérouta les partisans des *Rickettsia* comme agents, des typhus, c'est qu'à n'importe quel moment de la maladie on ne rencontre jamais ces microorganismes, chez les animaux, infectés avec le virus mondial.

A l'heure actuelle, les avis sont partagés; les uns voient une relation étroite entre *Rickettsia* et typhus, d'autres nient toute action pathogène des *Rickettsia*, enfin, les médiateurs considèrent ces éléments bacillaires comme la forme visible du virus typhique, dont les proteus X représenteraient l'élément cultivable et non pathogène (Weigl, Breinl).

La Fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses détermine chez le cobaye une infection fébrile, très grave pour l'animal, et souvent mortelle; 2 c.c. de sang virulent, injecté sous la peau, suffisent pour reproduire la maladie; l'orchite peut exister; mais elle est tardive, nécrosoante.

En résumé, le cobaye est, après l'homme et le singe, l'animal le plus sensible, dans l'ensemble, aux virus des fièvres exanthématiques; il est certes plus sensible que le rat et le lapin. Il réagit toujours par la fièvre qui, quelquefois, est mortelle. Lorsqu'il guérit, il est solidement immunisé. Par conséquent, on devrait s'attendre à trouver dans son sérum, au cours ou au déclin de la maladie, les agglutinines dont Weil et Felix ont montré l'existence chez l'homme et chez les autres animaux typhiques. Or, on ne les y rencontre pas. C'est sur ce point particulier qu'ont porté les recherches, exposées dans les chapitres suivants.

CHAPITRE II

PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES

CONFIRMATION DE L'ABSENCE DE LA RÉACTION DE WEIL ET FELIX CHEZ LE COBAYE TYPHIQUE DANS LES CONDITIONS NORMALES DE L'EXPÉRIMENTATION

LE SÉRUM DES COBAYES TYPHIQUES, ÉPROUVÉ PAR LA MÉTHODE DE WEIL ET FELIX, SE MONTRE NÉGATIF

Le fait est depuis longtemps connu. Nous l'avons vérifié sur 24 sérums de cobayes typhiques en présence de diverses souches de *proteus* agglutinables.

ORIGINE DES SÉRUMS

Douze des cobayes éprouvés étaient infectés du virus historique; six étaient infectés du virus murin de Toulon et six du virus murin de Mexico.

Le virus historique dont il s'agit ici est la souche tunisienne, isolée d'un cas humain, le 1^{er} avril 1924 par Charles Nicolle et entretenue par inoculation intrapéritonéale du cerveau de cobayes à cobayes.

Le virus murin de Toulon est celui que Marcandier et Pirot ont isolé, en avril 1930, d'un rat du cuirassé « Paris ».

Le virus murin de Mexico a été isolé, en juillet 1931, par Mooser d'un rat, naturellement infecté et capturé dans la prison de Belém;

ce virus a été apporté à Tunis par Ch. Nicolle et entretenu par passages intrapéritonéaux sur cobayes avec le cerveau et l'exsudat de la tunique vaginale.

Le sang des cobayes a été prélevé au moyen d'une seringue stérile, par ponction cardiaque, placé à l'étuve à 37° C. pendant une heure, pour favoriser la rétraction du caillot, puis à la glacière. Les réactions d'agglutination ont été effectuées le lendemain des prélèvements.

ORIGINE DES SOUCHES DE PROTEUS UTILISÉES

Nous avons employé comparativement les deux proteus isolés et étudiés par Weil et Félix et dénommés par ces auteurs X2 et X19, le Proteus XK de Kingsbury, et le Proteus S 24, récemment isolé par Jean Laigret à l'Institut Pasteur de Tunis [22].

Origine, caractères, propriétés antigéniques du Proteus S 24

ORIGINE.

Un vagabond, Salah b. A., entré avec le diagnostic « ictère grave apyrétique », meurt à l'hôpital dès son admission. L'examen ultramicroscopique des urines, du foie et de la rate ne permet de déceler aucun spirochète.

10 c.c. d'urine et un morceau de foie, finement broyé, sont inoculés dans la cavité péritonéale des cobayes 217 et 218.

Cob. 217 : observé pendant 19 jours, ne présente aucune élévation de température; l'examen du sang, par piqûre de l'oreille, est effectué tous les jours : absence de spirochètes.

Cob. 218 : suivi pendant 24 jours, atteint, par 2 fois, le 9^e et le 15^e jours, la température de 40°6. La courbe thermométrique est sans signification; les examens de sang, à l'ultramicroscope, sont négatifs.

Le 6^e jour de l'inoculation, quelques gouttes de sang, prélevées à l'oreille, sont inoculées sous la peau des souris S 22, S 23 et S 24.

La souris S 22 meurt au 7^e jour de l'inoculation sans avoir présenté de fièvre; les examens de son sang sont négatifs.

La souris S 23 est observée pendant 19 jours; pas de fièvre, pas de spirochètes.

La souris S 24 est suivie pendant 16 jours; pas de fièvre, pas de spirochètes; elle est sacrifiée, mourante, au 17^e jour. A l'autopsie, rien de particulier; sur les frottis de foie, de rate et d'épiploon, nombreux petits bacilles Gram négatifs.

Les cultures du foie et du sang du cœur donnent un bacille très mobile ne prenant pas le gram.

CARACTÈRES BIOCHIMIQUES.

Bacille très mobile, Gram négatif, donnant sur gélose inclinée des colonies grimpantes et envahissant le milieu en 24 heures.

Gélose glucosée profonde : culture dans toute la hauteur du milieu avec formation de gaz et dislocation du milieu.

Gélose de Veillon : pousse en surface et en profondeur.

Gélose au sang : pas ou peu d'hématolyse.

Gélatine en culot : liquéfaction visible après 24 heures; totale après 4 jours de température à 22°.

Gélose rouge neutre : virage au jaune après 24 heures d'étuve et fluorescence nette.

Gélose au plomb : formation d'hydrogène sulfuré et coloration brune de la masse gélosée.

Lait : peptonification après quelques jours d'étuve.

Eau peptonée : formation d'indol.

Sérum coagulé : culture nette, légère digestion du milieu après plusieurs jours d'étuve.

Pomme de terre : léger enduit blanchâtre, luisant.

Action sur les alcools : fermentation de la glycérine.

Action sur les hydrates de carbone non sucrés : aucune action sur la fécule de pomme de terre, l'amidon de blé, l'inuline et la dextrine.

Action sur les glucides : aucune action sur le lactose, lévulose, mannite, dulcité, érythrite, arabinose, xylose, mannose, raffinose, glycogène.

Fermentation du maltose, saccharose, légère fermentation du sorbite.

Fermentation du galactose et du glucose avec dégagement gazeux.

POUVOIR PATHOGÈNE.

Cobaye : par inoculation péritonéale, l'animal meurt en moins de 20 heures : à l'autopsie, péritonite, éclatement de l'estomac, souvent vésicule biliaire blanche et dure.

La culture en bouillon du sang du cœur donne le bacille à l'état pur.

Par inoculation sous-cutanée, l'animal réagit par une fièvre légère qui dure 3 à 5 jours; rarement formation d'abcès au point d'inoculation.

Lapin : par inoculation péritonéale d'un demi tube d'une culture sur gélose l'animal fait une fièvre très légère, puis se rétablit vite.

Sous la peau, aucune réaction de l'animal;

L'injection intraveineuse détermine la mort de l'animal en moins de 20 heures : péritonite suppurée.

Culture en bouillon du sang du cœur : proteus à l'état pur.

Rat : l'inoculation péritonéale détermine une septicémie mortelle en moins de 20 heures : péritonite suppurée : présence du bacille dans tous les organes.

Sous la peau, aucune réaction de l'animal.

Par ingestion, les trois rats inoculés sont en très mauvais état pendant 5 jours, puis se rétablissent.

Souris : mort en 20 heures par inoculation péritonéale; l'injection sous-cutanée est inoffensive.

Toxine : 5 c.c. d'une culture en bouillon, âgée de 15 jours, filtrée sur bougie Chamberland L 3, sont inoculés dans l'oreille marginale d'un lapin : aucune réaction de l'animal.

Une endotoxine, préparée par le procédé de Besredka, ne tue ni le lapin par voie veineuse à la dose de 3 c.c., ni le cobaye dans la cavité péritonéale à la dose de 2 c.c.; 0 c.c. 5 de cette endotoxine constitue la dose mortelle pour une souris inoculée dans le péritoine.

ETUDE SÉROLOGIQUE.

Felix a insisté, nous l'avons vu, sur l'intérêt qu'il y a employer les différents types sérologiques des proteus sous la forme la plus sensible à l'agglutination. Cette forme il l'a déterminée lui même en cultivant les proteus X sur une gélose ainsi préparée :

On ajoute à du bouillon de viande, peptoné et salé, 3 % de gélose; on amène à pH 7,4 et on coule en tubes que l'on incline. Ces tubes sont maintenus dans l'étuve à 37° jusqu'à ce que l'eau de condensation s'évapore. La surface de la gélose prend un aspect brillant et lisse : c'est la gélose sèche.

Le proteus est repiqué sur cette gélose sèche; après 24 heures, les colonies se différencient en colonies H, c'est-à-dire en colonies qui ont tendance à « couler », à s'étendre, et en colonies O c'est-à-dire en colonies qui conservent leur forme ronde. Après un certain nombre de repiquages sur

gélose sèche, ces colonies O ont acquis la propriété de donner des colonies toujours séparées.

Le *Proteus* S 24 a été utilisé exclusivement sous cette forme O.

**AGGLUTINATION DU PROTEUS O S 24
PAR DES SÉRUMS HUMAINS ET DES SÉRUMS EXPÉRIMENTAUX**

SÉRUMS	VIRUS	AGGLUTINATION AVEC			
		O X 19	O X K	O X 2	O S 24
Sérum humain B..	Typhus historique	+ 250	0	± 25	+ 250
Sérum humain Th.	Typhus historique	+ 16.000	± 50	± 50	+ 16.000
Sérum lapin 385...	Typhus historique	+ 500	0	0	+ 500
Sérum âne J 2....	Typhus murin de Toulon	+ 200	0	± 25	+ 200
Sérum humain A.	Fièvre boutonneuse	+ 2.000	0	+ 100	+ 2.000
Sérum humain D.	Fièvre boutonneuse	± 200	+ 50	+ 50	± 100
Sérum humain F.	Fièvre boutonneuse	+ 1.000	0	0	+ 2.000

Nous voyons que, d'après ces quelques exemples, l'agglutination du OS 24 marche de pair avec celle du OX 19 de Weil et Felix. Les agglutinations pour OX 19 et OS 24 atteignent un titre égal; l'antigène O du X 19 est contenu dans l'antigène O du *Proteus* S 24. Mais les caractères antigéniques du S 24 apparaissent mieux dans une étude comparée entre les *proteus* OX 19, OX 2, OXK et OS 24 et leurs sérums expérimentaux correspondants.

	AGGLUTINATION AVEC			
	O X 19	O X K	O X 2	O S 24
Sérum lapin 383 anti O X 19.....	+ 2.000	0	0	+ 2.000
Sérum lapin 113 anti O X K.....	0	+ 500	0	0
Sérum lapin 398 anti O X 2.....	0	0	+ 1.000	0
Sérum lapin 362 anti O S 24.....	+ 500	+ 500	0	+ 1.000
Sérum lapin 297 anti O S 24.....	+ 5.000	+ 2.000	0	+ 10.000

Ce tableau nous prouve, d'abord, que les sérums de tous les animaux préparés contre le proteus ne contiennent que l'antigène O. Nous constatons, comme Felix et Rhodes l'ont démontré, la différence qui existe entre l'antigène O du X 19 et l'antigène O du proteus de Kingsbury.

Mais nous voyons qu'il existe des différences manifestes entre la souche de Weil et Felix et le Proteus S 24; les 2 lapins, préparés avec les souches X 19 et X 2, ne contiennent que les agglutinines correspondantes aux types de proteus employés; les deux lapins, préparés contre la souche S 24, possèdent, à un taux élevé, des agglutinines pour le X 19 et les agglutinines pour le Proteus XK. A lui seul, le S 24 grouperait ainsi 2 antigènes O; celui du X 19, puisque les taux d'agglutination, obtenus avec X 19 et S 24, sont égaux, et en partie celui du proteus de Kingsbury.

TECHNIQUE DES RÉACTIONS D'AGGLUTINATION

Une culture de 24 heures sur gélose sèche est additionnée de 10 c.c. environ d'eau physiologique stérile à 9 grammes de Cl Na pour mille. Le tube est roulé entre les mains et la suspension homogène décantée avec une pipette à boule dans un gros tube à essai stérile. On ramène la richesse microbienne à quatre milliards de germes par centimètre cube (richesse mesurée à l'échelle de Mestrezat).

Le sérum est dilué dans la proportion de trois parties de sérum pour 47 parties d'eau physiologique stérile, par exemple, 3 gouttes + 47 gouttes d'eau; le dispositif expérimental est ensuite réalisé dans 6 tubes de 6 × 8, comme suit :

TUBES	1	2	3	4	5	TÉMOIN
Sérum à 3/50, en gouttes.....	XX	X	V	II	I	»
Eau physiologique, en gouttes.	»	X	XV	XVIII	XIX	XX
Suspension microbienne, en gouttes.....	X	X	X	X	X	X
Dilutions.....	1/25	1/50	1/100	1/200	1/500	»

Les tubes sont mis dans la chambre étuve à 37° C. pendant 2 heures et abandonnés ensuite à la température du laboratoire; 24 heures après, on lit les résultats.

Résultats

1° Cobayes inoculés du virus historique

Cobaye 18. Après une incubation de 7 jours, sa température monte à 40°1 et 40°5; le jour suivant, elle est à 40°8; la réaction de Weil et Felix, effectuée le lendemain, est *négative* (taux initial 1/25).

Cobaye 27. Incubation 8 jours; ponctionné au 2^e jour de fièvre : *agglutination nulle.*

Cobaye 32. Incubation 6 jours; ponctionné le 5^e jour de fièvre : *aucune agglutination.*

Cobaye 33. Incubation 7 jours; ponctionné le 5^e jour de fièvre : *pas d'agglutination.*

Cobaye 45. Incubation 5 jours; ponctionné le 8^e jour de fièvre : *pas d'agglutination.*

Cobaye 47. Incubation 9 jours; ponctionné le 8^e jour de fièvre : *pas d'agglutination.*

Cobaye 29. Incubation 7 jours; fièvre 7 jours; ponctionné au 2^e jour d'apyrexie : *résultat négatif.*

Cobaye 19. Incubation 7 jours; fièvre 6 jours; ponctionné le 2^e jour d'apyrexie : *résultat négatif.*

Cobaye 212. Incubation 6 jours; fièvre 5 jours; ponctionné le 5^e jour d'apyrexie : *pas d'agglutination.*

Cobaye 219. Incubation 7 jours; fièvre 8 jours; ponctionné le 5^e jour d'apyrexie : *pas d'agglutination.*

Cobaye 51. Incubation 7 jours; fièvre 5 jours; ponctionné le 8^e jour d'apyrexie : *pas d'agglutination.*

Cobaye 58. Incubation 9 jours; fièvre 8 jours; ponctionné le 8^e jour d'apyrexie : *pas d'agglutination.*

2° Cobayes inoculés avec le virus murin

1° VIRUS TOULON.

Cobaye 112. Incubation 6 jours; ponctionné au 2^e jour de fièvre : *résultat négatif.*

Cobaye 119. Incubation 7 jours; ponctionné au 5^e jour de fièvre : *résultat négatif.*

Cobaye 127. Incubation 5 jours; ponctionné au 8^e jour de fièvre : *résultat négatif.*

Cobaye 138. Incubation 6 jours; ponctionné au 2^e jour d'apyrexie : *résultat négatif.*

Cobaye 149. Incubation 5 jours; ponctionné au 5^e jour d'apyrexie : *résultat négatif.*

Cobaye 151. Incubation 7 jours; ponctionné au 8^e jour d'apyrexie : *résultat négatif.*

2° VIRUS MEXICAIN.

Cobaye N 14. Incubation 5 jours; ponctionné au 2^e jour de fièvre : *pas d'agglutination.*

Cobaye N 25. Incubation 4 jours; ponctionné au 5^e jour de fièvre : *pas d'agglutination.*

Cobaye N 33. Incubation 3 jours; ponctionné au 8^e jour de fièvre : *pas d'agglutination.*

Cobaye N 15. Incubation 4 jours; ponctionné au 2^e jour d'apyrexie : *pas d'agglutination.*

Cobaye N 24. Incubation 4 jours; ponctionné au 5^e jour d'apyrexie : *pas d'agglutination.*

Cobaye N 39. Incubation 3 jours; ponctionné au 8^e jour d'apyrexie : *pas d'agglutination.*

Il est donc vérifié, une fois de plus, que les cobayes, quels que soient les virus typhiques dont on les inocule, ne donnent jamais la réaction de Weil et Félix, à aucun moment de l'évolution de la maladie, dans les conditions normales de l'expérimentation.

ADDENDUM AU CHAPITRE II

POUVOIR AGGLUTINANT DES SÉRUMS DE COBAYES INOCULÉS AVEC DES CULTURES DE BACILLES PROTEUS

Nous verrons, dans la discussion qui va suivre, qu'on a tenté d'expliquer la négativité de la réaction de Weil et Felix chez le cobaye par l'inaptitude de cet animal à produire des agglutinines anti-proteus; il était donc capital de chercher comment les cobayes répondent à l'inoculation de cultures de bacilles protéés.

MATÉRIEL UTILISÉ

Nous nous sommes servi de cultures vivantes, de cultures chauffées, et de cultures glycélinées.

1° CULTURES VIVANTES.

Une culture de 24 heures en tube de gélose est émulsionnée dans 10 c.c. d'eau physiologique stérile; en inoculant 1 c.c., 2 c.c. ou 0 c.c. 4, nous dirons que l'animal a reçu le 1/10, le 1/5, le 1/100 d'un tube de gélose.

2° CULTURES CHAUFFÉES.

Une émulsion d'une culture de 24 heures sur gélose, reprise par 10 c.c. d'eau physiologique, est chauffée au bain marie à 65° pendant une heure.

3° CULTURES GLYCÉRINÉES.

Une culture de 24 heures en tube de gélose est émulsionnée dans une dizaine de c.c. d'eau physiologique stérile; la suspension obtenue

est fortement centrifugée, le liquide clair décanté, et le culot de corps microbiens émulsionné dans 10 c.c. de glycérine neutre stérile. On transvase dans un tube stérile que l'on place dans la chambre étuve : tous les jours, onensemence un tube de gélose et un tube de bouillon au moyen d'une goutte de la suspension glycinée; au bout de 3 à 4 jours en général, tous les germes sont tués.

Pour l'injection à l'animal, on dilue au $1/10^e$ dans l'eau physiologique.

Cette émulsion glycinée, injectée à des doses infimes, nous a permis d'obtenir, chez le lapin, des sérums agglutinants à des taux élevés.

Comportement des cobayes inoculés de proteus par les diverses voies d'inoculation

1° Avec le X19 :

La culture vivante, par la voie sous-cutanée, à la dose du $1/10^e$ d'un tube de gélose, détermine, en général, une légère élévation de température qui dure deux jours; dans la cavité péritonéale, la mort survient en moins de 20 heures, péritonite suppurée, souvent éclatement de l'estomac, congestion des feuillets de la tunique vaginale.

La culture chauffée ne détermine, chez l'animal, aucun symptôme.

Les cultures glycinées sont sans action sur l'organisme du cobaye, par voie sous-cutanée.

2° Avec le S 24 :

Le Proteus S 24 semble avoir la même action que le X 19; l'injection sous-cutanée de cultures vivantes est suivie d'une légère hyperthermie; l'injection intrapéritonéale est aussi sévère que celle du X 19.

Quant aux cultures chauffées et glycinées, elles sont sans action sur l'organisme de l'animal.

1. — POUVOIR AGGLUTINANT CONFÉRÉ PAR L'INOCULATION DES BACILLES PROTEUS AU COBAYE NEUF

A. — Cobayes inoculés avec le Proteus S 24

1° CULTURES VIVANTES.

Le *cobaye* 103 reçoit le 1/10^e d'un tube de gélose, en injection sous-cutanée : sa température est prise matin et soir : légère élévation au 18^e jour : saigné le 30^e jour de l'inoculation, son sérum agglutine à 1/50^e.

Le *cobaye* 104 reçoit le 1/10^e d'un tube de gélose sous la peau; la température est normale; ponctionné le 19^e jour, son sérum agglutine le S 24 à 1/200^e.

Le *cobaye* 105 inoculé d'un 1/10 de tube de gélose, sous la peau; fait une fièvre très légère et son sérum, recueilli par ponction cardiaque, au 19^e jour, agglutine le S 24 à 1/200^e.

A titre de comparaison :

Le *lapin* 365 reçoit le 1/5^e d'un tube de gélose, sous la peau; saigné au 21^e jour, son sérum agglutine le S 24 à 1/200.

Le *lapin* 362 reçoit le 1/10^e d'un tube de gélose, dans la cavité péritonéale; il est ponctionné le 19^e jour : son sérum agglutine le S 24 à $\pm$ 500.

Le *rat* P 1 reçoit, en injection sous-cutanée, le 1/10^e d'un tube de gélose; il est ponctionné le 31^e jour de l'inoculation : l'agglutination est nette à la dilution de 1/200^e.

2° CULTURES CHAUFFÉES.

Le *cobaye* 368 reçoit, dans la cavité péritonéale, le 1/10^e d'un tube de gélose chauffé une heure à 65°; ponctionné au 19^e jour, l'agglutination est nulle.

A titre de comparaison :

Le *lapin* 366 reçoit, dans le péritoine, le 1/5^e d'un tube de gélose chauffé; le 21^e jour, son sérum agglutine le S 24 à 1/200^e.

3° CULTURES GLYCÉRINÉES.

Le *cobaye* 107 reçoit 0,1 de suspension glycinée, sous la peau; on ne constate aucune élévation de température; saigné au 19^e jour, son sérum agglutine le S 24 à 1/100^e.

Le *cobaye* C 201 reçoit, en 10 jours, par voie sous-cutanée, 5 injections de la suspension glycinée de S 24 à raison de 0 c.c. 1 chaque fois; 20 jours après la dernière injection de proteus, il est ponctionné : la réaction de Weil et Felix est positive à + 100.

Le *cobaye* C 202 reçoit, tous les 2 jours, pendant 10 jours, 0 c.c. 10 de la suspension glycinée, sous la peau. Son sang, prélevé par ponction cardiaque 20 jours après la dernière injection de proteus, agglutine le S 24 à + 100.

Le *cobaye* C 203 est traité de la même manière; son sérum, 30 jours après la première inoculation, agglutine le S 24 à + 200.

Le *cobaye* C 204 reçoit, dans le même temps, les mêmes doses de suspension glycinée : ponctionné 20 jours après la dernière injection, son sérum a un pouvoir agglutinant net à la dilution de 1/200^e.

Le *cobaye* C 209, après 5 injections, en 10 jours, et un repos de 20 jours, son sérum agglutine le Proteus S 24 à + 100.

Le *cobaye* C 210, inoculé sous la peau de 0 c.c. 5 de suspension glycinée, en 5 injections espacées de 2 jours, agglutine à 1/500^e, 20 jours après la dernière injection de proteus.

Le *cobaye* C 211 reçoit, sous la peau, 5 injections de S 24; saigné après un repos de 20 jours, son sérum a un pouvoir agglutinant à la dilution de 1/500^e.

Le *cobaye* C 212 reçoit, en 10 jours, les mêmes doses de suspension glycinée; après le même repos, son sérum agglutine à + 500.

Le *cobaye* C 216 reçoit, tous les 2 jours, pendant 10 jours, 0 c.c. 1 de suspension glycinée sous la peau. Son sang, prélevé par ponction cardiaque, 20 jours après la dernière injection, agglutine le S 24 à + 500.

Le *cobaye* C 217, inoculé sous la peau de la suspension glycinée à raison de 0 c.c. 1 chaque fois, agglutine le S 24 à la dilution de 1/100^e.

Le *cobaye* C 218 reçoit, en 10 jours, par voie sous-cutanée, 5 injections de la suspension glycinée de S 24 à raison de 0 c.c. 1 chaque fois; 20

jours après la dernière injection de proteus, il est ponctionné, la réaction de Weil et Felix est positive à + 100.

Le *cobaye C 219* reçoit, dans le même temps, les mêmes doses de suspension glycinée; il est saigné après un repos de 20 jours : son sérum agglutine le S 24 à la dilution de 1/100°.

Le *cobaye C 225* subit un traitement identique; 20 jours après la dernière injection, son sang est recueilli par ponction cardiaque; la réaction d'agglutination est positive à 1/100°.

A titre de comparaison :

Le *lapin C 297* (poids 1 kg. 350) reçoit, en 10 jours, par voie sous-cutanée, 5 injections de la suspension glycinée de S 24 à raison de 0,2 par kilogramme d'animal (les cobayes, dont le poids oscillait autour de 500 grammes avaient reçu 0 c.c. 1 de suspension par injection); il est ponctionné 20 jours après la dernière injection de proteus : son sérum agglutine à la dilution de + 500.

Le *rat 4* reçoit 5 injections de proteus glyciné, à raison de 0 c.c. 1 par kilogramme d'animal; ponctionné après un repos de 20 jours, son sérum agglutine à la dilution de + 200.

Le *rat 5* est inoculé des mêmes doses de suspension glycinée; son sang prélevé par ponction cardiaque, agglutine le S 24 à la dilution de + 200.

B. — Cobayes inoculés avec le Proteus X 19

1° CULTURES VIVANTES.

Le *cobaye 106* reçoit le 1/10° d'une culture de 24 heures sur gélose en injection sous-cutanée; au 18° jour de l'inoculation, il fait une fièvre de 4 jours, son sang, recueilli par ponction cardiaque, agglutine le X 19 à la dilution de $\pm$ 25.

2° CULTURES GLYCÉRINÉES.

Le *cobaye C 205* reçoit, en 10 jours, par voie sous-cutanée, 5 injections de suspension glycinée de X 19, à raison de 0 c.c. 1 chaque fois; 20 jours après la dernière injection de proteus, il est ponctionné; la réaction de Weil et Felix est positive à 1/50°.

Le *cobaye C 206* reçoit, tous les 2 jours, pendant 10 jours, 0 c.c. 1 de la suspension glycinée, sous la peau; son sang, prélevé par ponction car-

diague 20 jours après la dernière injection de proteus, agglutine le X 19 à + 100.

Le cobaye C 207 est traité de la même manière; son sérum, 30 jours après la première inoculation, agglutine le X 19 à + 100.

Le cobaye C 208 reçoit, dans le même temps, les mêmes doses de suspension glycinée; ponctionné 20 jours après la dernière injection, son sérum a un pouvoir agglutinant net à la dilution du 1/100^e.

Le cobaye C 215 inoculé, sous la peau, de 0 c.c. 5 de suspension glycinée, en 5 injections espacées de 2 jours, agglutine à 1/200^e, 20 jours après la dernière injection de Proteus X 19.

Le cobaye C 220 reçoit, sous la peau, 5 injections de X 19; saigné après un repos de 20 jours, son sérum a un pouvoir agglutinant, à la dilution de 1/50^e.

Le cobaye C 221 reçoit, en 10 jours, les mêmes doses de la suspension de X 19 en glycérine; après le même repos, son sérum agglutine à + 100.

Le cobaye C 222 reçoit, tous les 2 jours, pendant 10 jours, 0 c.c. 1 de suspension glycinée sous la peau; son sang, prélevé par ponction cardiaque, 20 jours après la dernière injection, agglutine le X 19 à + 100.

Le cobaye C 223 inoculé, sous la peau de la suspension glycinée à raison de 0 c.c. 1 chaque fois, agglutine le X 19 à la dilution de 1/50^e.

Le cobaye C 224 reçoit, en 10 jours, 5 injections de la suspension de X 19 en glycérine, par voie sous-cutanée, à raison de 0 c.c. 1 chaque fois; 20 jours après la dernière injection de proteus, il est ponctionné; la réaction de Weil et Felix est positive à + 100.

A titre de comparaison :

Le lapin C 298 (poids 1 kg. 675) reçoit, en 10 jours, par voie sous-cutanée, 5 injections de suspension glycinée de X 19, à raison de 0 c.c. 2 par kilogramme d'animal; il est ponctionné, 20 jours après la dernière injection de proteus; son sérum agglutine à la dilution de + 2000.

Le rat 2 reçoit, en 10 jours, 5 injections de suspension microbienne en glycérine, à raison de 0 c.c. 2 par kilogramme d'animal; ponctionné après un repos de 20 jours, son sérum a un pouvoir agglutinant vis-à-vis du X 19, net à la dilution de + 100.

Le rat 3 est inoculé, dans le même temps, des mêmes doses de suspension glycinée de X 19; son sang, recueilli par ponction cardiaque, agglutine à la dilution de + 200.

**Tableaux récapitulatifs des agglutinines
obtenues avec les différentes cultures de Proteus X 19 et de Proteus S 24**

TABLEAU I
Animaux + S 24

ANIMAUX	CULTURE	VOIE D'INOCULATION	NOMBRE D'INJECTIONS	RÉSULTATS
Cobaye 103.....	vivante	sous-cutanée	1	+ 50
Cobaye 104.....	vivante	sous-cutanée	1	+ 200
Cobaye 105.....	vivante	sous-cutanée	1	+ 200
Lapin 365.....	vivante	sous-cutanée	1	+ 20
Lapin 362.....	vivante	intrapéritonéale	1	± 500
Rat P 1.....	vivante	sous-cutanée	1	+ 200
Cobaye 368.....	chauffée	intrapéritonéale	1	0
Lapin 366.....	chauffée	intrapéritonéale	1	+ 200
Cobaye 107.....	glycérinée	sous-cutanée	1	+ 100
Cobaye C 201.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 100
Cobaye C 202.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 100
Cobaye C 203.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 200
Cobaye C 204.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 200
Cobaye C 209.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 100
Cobaye C 210.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 500
Cobaye C 211.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 500
Cobaye C 212.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 500
Cobaye C 216.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 500
Cobaye C 217.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 100
Cobaye C 218.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 100
Cobaye C 219.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 100
Cobaye C 225.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 100
Lapin C 297.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 500
Rat 4.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 200
Rat 5.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 200

TABLEAU II
Animaux + X 19

ANIMAUX	CULTURE	VOIE D'INOCULATION	NOMBRE D'INJECTIONS	RÉSULTATS
Cobaye 106.....	vivante	sous-cutanée	1	± 25
Cobaye C 205.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 50
Cobaye C 206.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 100
Cobaye C 207.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 100
Cobaye C 208.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 100
Cobaye C 215.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 200
Cobaye C 220.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 50
Cobaye C 221.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 100
Cobaye C 222.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 100
Cobaye C 223.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 50
Cobaye C 224.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 100
Lapin C 298.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 2.000
Rat 2.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 100
Rat 3.....	glycérinée	sous-cutanée	5	+ 200

CONCLUSION :

Les taux d'agglutination obtenus, sans être considérables, montrent que le cobaye est parfaitement apte à produire des agglutinines anti-proteus.

2. — RÉSULTAT DE L'INOCULATION DES CULTURES DES BACILLES PROTEUS AU COBAYE INOCULÉ DE VIRUS TYPHIQUE

A. — Cobayes guéris de typhus historique et inoculés de *Proteus* S 24

Le cobaye 112 reçoit, le 5 décembre, le 1/10^e d'un cerveau virulent, dans la cavité péritonéale, et 0 c.c. 1 de culture glycérinée sous la peau, le 7,

le 9, le 11 et le 13 du même mois. Sa température prise, matin et soir, reste stationnaire jusqu'au 17 décembre, c'est-à-dire pendant 13 jours d'incubation, puis il fait une courbe fébrile qui dure 6 jours. Son sang est prélevé par ponction cardiaque au 29^e jour de l'inoculation et la réaction de Weil et Felix effectuée. Résultat : ± 100 .

Le *cobaye L 42* : incubation 6 jours; fièvre 8 jours; il est inoculé, au 7^e jour d'apyrexie, de 0 c.c. 1 de suspension glycinée, sous la peau; cette injection est répétée tous les 2 jours pendant 10 jours : ponctionné 20 jours après la dernière injection de proteus, son sérum agglutine le S 24 à la dilution de 1/50^e.

Le *cobaye L 4* : incubation 8 jours; fièvre 6 jours; reçoit, 7 jours après la défervescence, 5 injections, chacune de 0 c.c. 1 de suspension glycinée, en 10 jours : son sang recueilli par ponction cardiaque agglutine le S 24 au 1/50^e.

Le *cobaye L 46* : incubation 9 jours; fièvre 5 jours; est inoculé, au 7^e jour d'apyrexie, de la suspension microbienne en glycérine, à la dose de 0 c.c. 1 tous les 2 jours, pendant 10 jours; saigné 20 jours après la dernière injection, son sérum agglutine le S 24 à + 100.

Le *cobaye C 37* : incubation 7 jours; fièvre 7 jours; est inoculé, 7 jours après la défervescence, de 5 injections de suspension en 10 jours; après un repos de 20 jours, son sang est recueilli par ponction cardiaque; la réaction de Weil et Felix donne comme résultat + 50.

Le *cobaye C 43* : incubation 7 jours; fièvre 7 jours; reçoit, en 10 jours, 5 injections de la suspension glycinée; ponctionné 20 jours après la dernière injection de proteus, son sérum a un pouvoir agglutinant à la dilution de 1/50.

Le *cobaye L 45* : incubation 11 jours; fièvre 6 jours; est traité de même; ponctionné après 20 jours de repos, son sérum agglutine le S 24 à 1/50.

B. — Cobayes guéris du typhus murin et inoculés avec la suspension glycinée de S 24

Le *cobaye L 49* reçoit le 1/5 d'un cerveau virulent de virus Toulon; son incubation dure 4 jours; la fièvre 8 jours; il est inoculé de 0 c.c. 1 de suspension glycinée, sous la peau, au 14^e jour d'apyrexie, ponctionné le 15^e jour de l'inoculation de proteus, l'agglutination est nulle avec le S 24 (taux initial : 1/25^e).

Le *cobaye A 335*, virus Toulon : incubation 6 jours, fièvre 6 jours, reçoit, sous la peau, 5 injections de la suspension glycinée, en 10 jours; repos 20 jours; son sérum agglutine à + 50.

Le *cobaye A 338*, virus Toulon, incubation 6 jours, fièvre 6 jours; est injecté, 5 fois en 10 jours, de 0 c.c. 1 de la suspension glycinée; ponctionné après 20 jours de repos, il agglutine le S 24 à la dilution de 1/100.

Le *cobaye A 339*, virus Toulon : incubation 6 jours, fièvre 6 jours; est traité de la même façon, dans le même temps; son sérum a un pouvoir agglutinant qui se manifeste à la dilution de 1/50.

Le *cobaye N 55*, virus Toulon : incubation 7 jours; fièvre 9 jours; subit le même traitement : 20 jours après, son sang est prélevé par ponction cardiaque; la réaction de Weil et Felix est positive à 1/50.

Le *cobaye A 10*, virus mexicain : incubation 3 jours; fièvre 6 jours; est inoculé 5 fois en 10 jours, de la suspension glycinée; 20 jours après la dernière injection, on le saigne; son sérum agglutine le S 24 à ± 100 .

Le *cobaye L 54*, virus mexicain : incubation 3 jours, fièvre 7 jours, est traité de la même façon ;le taux de l'agglutination obtenu est de l'ordre du 1/50^e.

Le *cobaye N 16*, virus mexicain : incubation 3 jours; fièvre 7 jours; reçoit, en 10 jours 5 injections de la suspension glycinée; repos, 20 jours; saigné le sérum agglutine à 1/50.

Le *cobaye L 37*, virus de la Fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses : incubation 7 jours; fièvre 7 jours, reçoit le même nombre d'injections dans le même temps; saigné 20 jours après, il agglutine le S 24 à la dilution du 1/50.

Le *cobaye L 62* : virus de la Fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses; incubation 7 jours; fièvre 7 jours; reçoit, en 10 jours, 5 injections de S 24 glyciné; son sang est prélevé par ponction cardiaque 20 jours après la dernière injection de proteus; son sérum manifeste ses propriétés agglutinantes à la dilution du 1/50^e.

C. — Cobayes guéris de typhus historique et inoculés de la suspension glycinée de X 19

Le *cobaye A 353* : incubation 7 jours, fièvre 6 jours, reçoit, en 10 jours, 5 injections de proteus X 19 sous la peau; ponctionné après un repos de 20 jours son sérum agglutine à 1/100.

Le *cobaye A 357* : incubation 5 jours; fièvre 9 jours; reçoit, au 7^e jour d'apyrexie, 5 injections sous-cutanées de X 19 glyciné; il est ponctionné 20 jours après la dernière injection, son sérum agglutine à la dilution du 1/50^e.

Le *cobaye C 59* : incubation 7 jours; fièvre 5 jours; est traité selon le même *modus faciendi*; résultat de l'agglutination + 100.

D. — Cobayes guéris de typhus murin et inoculés de la suspension glycinée de Proteus X 19

Le *cobaye L 53*, virus Toulon : incubation 8 jours, fièvre 10 jours; il est inoculé au 7^e jour d'apyrexie de 0 c.c. 1 de suspension glycinée, sous la peau; cette injection est répétée tous les 2 jours pendant 10 jours; ponctionné 20 jours après la dernière injection de proteus, son sérum agglutine le X 19 à la dilution de 1/100.

Le *cobaye L 11*, virus Toulon : incubation 8 jours, fièvre 11 jours; reçoit après la défervescence 5 injections de suspension glycinée, chacune de 0 c.c. 1; son sang, recueilli par ponction cardiaque, agglutine le X 19 à 1/50.

Le *cobaye A 347*, virus Toulon : incubation 8 jours; fièvre 13 jours; reçoit les mêmes doses de suspension glycinée, dans le même temps, après un repos de 20 jours il est ponctionné; son sérum agglutine le X 19 à 1/25^e.

Le *cobaye A 20*, virus mexicain : incubation 5 jours; fièvre 10 jours; est traité de la même façon; son sérum agglutine le X 19 à 1/50.

Le *cobaye C 26*, virus mexicain : incubation 5 jours; fièvre 6 jours; est inoculé 7 jours après la défervescence, de 5 injections de suspension glycinée en 10 jours; ponctionné après la dernière injection de proteus, son sérum agglutine le X 19 à 1/200.

E. — Cobayes, inoculés de virus typhique et de Proteus X 19 glyciné

Le *cobaye 111* reçoit, le 1/10^e d'un cerveau virulent de typhus historique et, en même temps, 0 c.c. 1 de suspension glycinée, sous la peau; l'injection sous-cutanée du X 19 glyciné est répétée les troisième, cinquième, septième et neuvième jour, de l'inoculation; après une incubation de 13 jours; il fait une courbe fébrile qui dure 6 jours, la température atteignant 40°4; saigné le 27^e jour de l'inoculation, son sérum agglutine le X 19 à + 100.

Le *cobaye 386* reçoit, le même jour, 1/10^e de cerveau virulent de virus historique et, 8 jours après, 0 c.c. 1 de suspension glycinée sous la peau, il ne fait pas de fièvre : saigné au 20^e jour, son sérum est dépourvu de pouvoir agglutinant vis-à-vis du X 19 (Ce cobaye n'a pas été réinoculé pour l'épreuve d'immunité; le témoin, cobaye 368, fait un typhus net).

Le *cobaye 381* reçoit 1/10^e de cerveau du virus mondial : au premier jour de fièvre, on lui injecte, par voie sous-cutanée, 0 c.c. 1 de suspension

glycérinée : chute légère de la température qui remonte le lendemain à 40°5; le cobaye fait un typhus léger; son sang est recueilli par ponction cardiaque 14 jours après l'inoculation de la suspension glycérinée; résultat = 0.

Le cobaye 66 reçoit le 1/10^e d'un cerveau virulent — typhus murin de Mexico —; après une incubation anormale de 16 jours, il fait une fièvre de 3 jours; 10 jours après la défervescence, il reçoit 0 c.c. 1 de suspension glycérinée, sous la peau. Trois jours après, il fait une rechute de typhus avec une fièvre de 4 jours; ponctionné, 14 jours après l'inoculation de proteus, son sérum agglutine le X 19 à + 100.

**Tableaux récapitulatifs des agglutinations obtenues
avec les suspensions glycérinées de Proteus X 19 et de Proteus S 24
chez les cobayes guéris de typhus**

TABLEAU III
Cobayes + S 24

COBAYES	VIRUS	INCUBATION	FIEVRE	INJECTIONS DE PROTEUS	NOMBRE D'INJECTIONS	VOIE	RÉSULTATS
112.....	Tunis	13	6	même jour que virus	5	s.-cutanée	± 100
L 42.....	Tunis	6	8	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 50
L 1.....	Tunis	8	6	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 50
L 46.....	Tunis	9	5	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	± 100
C 37.....	Tunis	7	7	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 50
C 43.....	Tunis	7	7	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 50
L 45.....	Tunis	11	6	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 50
L 49.....	Toulon	4	8	14 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	0
A 335.....	Toulon	6	6	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 50
A 338.....	Toulon	6	6	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 100
A 339.....	Toulon	6	6	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 50
N 55.....	Toulon	7	9	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 50
A 10.....	Mexicain	3	6	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	± 100
L 54.....	Mexicain	3	7	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 50
N 16.....	Mexicain	3	7	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 50
L 37.....	Spotted	7	7	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 50
L 62.....	Spotted	7	7	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 50

TABLEAU IV
Cobayes + X 19

COBAYES	VIRUS	INCUBATION	FIÈVRE	INJECTIONS DE PROTEUS	NOMBRE D'INJECTIONS	VOIE	RÉSULTATS
A 353.....	Tunis	7	6	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 100
A 357.....	Tunis	5	9	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 50
C 59.....	Tunis	7	5	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	± 100
L 53.....	Toulon	8	10	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 100
L 11.....	Toulon	8	11	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 50
A 347.....	Toulon	8	13	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 25
A 20.....	Mexicain	5	10	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 50
C 26.....	Mexicain	5	6	7 ^e jour d'apyrexie	5	s.-cutanée	+ 200
111.....	Tunis	13	6	même jour que typhus	5	s.-cutanée	+ 100
386.....	Tunis	0	0	8 jours après typhus	1	s.-cutanée	0
381.....	Tunis	8	5	1 ^{er} jour de fièvre	1	s.-cutanée	+ 100
387.....	Tunis	10	8	2 ^e jour de fièvre	1	s.-cutanée	0
66.....	Tunis	16	3	10 ^e jour d'apyrexie	1	s.-cutanée	+ 100

Il ressort de l'ensemble de ces expériences que, chez les cobayes guéris de typhus, la réponse à l'inoculation de proteus est plus faible que chez les cobayes neufs; en particulier, si nous comparons le tableau I et le tableau 3, en nous arrêtant surtout aux résultats donnés par une même méthode de préparation des agglutinines, c'est-à-dire : 5 injections de suspension glycinée en 10 jours; repos 20 jours et saignée, ou, chez les cobayes typhiques, 1^{re} injection de proteus au 7^e jour d'apyrexie, repos de 20 jours également et saignée, on remarquera que, pour le même nombre d'injections effectuées dans le même temps, les cobayes neufs arrivent assez facilement à agglutiner le proteus correspondant, à la dilution de 1/500, tandis que les cobayes guéris de typhus atteignent une seule fois le 1/100 (cobaye A 338).

Le fait est important; il autorise à conclure que, d'une manière

générale, les cobayes guéris de typhus possèdent moins d'aptitude que les cobayes neufs à produire des agglutinines anti-proteus.

3. — POUVOIR AGGLUTINANT DU SÉRUM DES COBAYES INOCULÉS D'ABORD DE PROTEUS, PUIS DE TYPHUS

1. — Cobayes inoculés de *Proteus* S 24, puis du virus historique

a) CULTURES VIVANTES :

Le *cobaye* 105 reçoit, par voie sous-cutanée, le 1/10^e d'une culture de 24 heures sur gélose; il fait une légère fièvre entre le 11^e et le 15^e jours; au 19^e jour, son sang est recueilli par ponction cardiaque; l'agglutination est positive au 1/200^e; inoculé de virus historique, il fait une infection nette avec une incubation de 11 jours et une fièvre de 6 jours; ponctionné au 1^{er} jour d'apyrexie, son sérum agglutine le S 24 à + 100.

b) CULTURES CHAUFFÉES :

Le *cobaye* 368 reçoit le 1/10^e d'un tube de gélose, dans la cavité péritonéale; au 19^e jour, il est ponctionné; l'agglutination est nulle; inoculé de virus historique, il fait une infection nette : incubation 7 jours, fièvre 8 jours; ponctionné une 2^e fois, son sérum est dépourvu de tout pouvoir agglutinant vis-à-vis du S 24.

c) CULTURES GLYCÉRINÉES :

Le *cobaye* C 201 reçoit par voie sous-cutanée, 5 injections de la suspension glycinée de S 24, à raison de 0 c.c. 1 chaque fois; 20 jours après la dernière injection de proteus, il est ponctionné; la réaction de Weil et Felix est positive à + 100; après un repos de 7 jours, on lui injecte dans la cavité péritonéale le 5^e d'un cerveau virulent; après une incubation de 7 jours, il fait une fièvre (41°5) qui dure 8 jours; ponctionné une 2^e fois, son sérum agglutine à + 50.

Le *cobaye* C 203 dont le sérum agglutine à + 200, est inoculé d'un 1/5^e de cerveau virulent : incubation 6 jours, fièvre 9 jours; il est ponctionné 7 jours après la défervescence, son sérum agglutine à + 50.

Le *cobaye C 204* a reçu, de 2 jours en 2 jours, 5 injections de la suspension glycinée; inoculé de virus mondial, il fait un typhus net; incubation 9 jours, fièvre 7 jours. Au 7^e jour d'apyrexie, il est ponctionné : la réaction de Weil et Felix est positive à + 50.

Le *cobaye C 216*, après avoir reçu 5 injections de S 24 glyciné, agglutine à + 500. On lui injecte, dans la cavité péritonéale, 1/10^e d'un cerveau virulent : après une incubation de 7 jours, il fait une fièvre de 6 jours; on recueille son sang par ponction cardiaque; après 7 jours d'apyrexie, la réaction de Weil et Felix est positive à 1/50^e.

Le *cobaye C 217*, dont le sérum, après 5 injections de proteus, agglutinait le S. 24 à + 100, est inoculé de virus mondial; incubation 8 jours, fièvre 7 jours; une semaine après la défervescence, il est ponctionné : agglutination à 1/25.

Le *cobaye C 225*, dont le taux d'agglutination était de + 100, reçoit le 1/5^e d'un cerveau virulent; incubation 8 jours, fièvre 6 jours; 7 jours après la défervescence, il est ponctionné; son sérum a un pouvoir agglutinant, vis-à-vis du S 24, à la dilution de 1/50.

2. — Cobayes inoculés de *Proteus S 24*, puis d'un virus murin

Le *cobaye C 209*, 7 jours après la première ponction cardiaque, qui révèle un taux d'agglutination = à + 100, est inoculé du virus murin de Toulon; incubation 7 jours; fièvre 6 jours; ponctionné, son sérum agglutine à $\pm$ 100.

Le *cobaye C 210* reçoit 5 injections de proteus; son sérum agglutine à + 500; il est inoculé de virus Toulon; incubation 8 jours, fièvre 8 jours; il est ponctionné au 7^e jour d'apyrexie; son sérum agglutine à + 200.

Le *cobaye C 211* reçoit, 5 injections de S 24 glyciné; la première réaction de Weil et Felix est positive à + 500; il est inoculé de virus Toulon : incubation 6 jours, fièvre 9 jours; son sang est recueilli par ponction cardiaque et agglutine le S 24 à + 200.

Le *cobaye C 212* reçoit, par voie sous-cutanée, 5 injections de la suspension glycinée de S 24, à raison de 0 c.c. 1 chaque fois; 20 jours après la dernière injection de proteus, il est ponctionné; la réaction de Weil et Felix est positive à + 500; après un repos de 7 jours, on lui injecte, dans la cavité péritonéale, le 1/10^e d'un cerveau virulent, (virus de Toulon); après une incubation de 7 jours et une fièvre de 8 jours, il est ponctionné une seconde fois, au 7^e jour d'apyrexie; on ne constate aucune agglutination, mais une lyse jusqu'à la dilution du 50^e.

Le *cobaye C 218*, dont le sérum agglutinait à + 100 est inoculé de 1/5^e de cerveau virulent (virus de Mexico) : incubation 3 jours, fièvre 7 jours; ponctionné, 7 jours après la défervescence, la réaction de Weil et Felix est positive à la dilution de 1/50.

Le *cobaye C 219* a reçu 5 injections de proteus de 2 jours en 2 jours; inoculé du virus mexicain, il fait un typhus net : incubation de 4 jours, fièvre 6 jours; au 7^e jour d'apyrexie il est ponctionné; son sérum agglutine à + 50.

3. — Cobayes inoculés de Proteus X 19, puis de virus historique

Le *cobaye C 205* reçoit, par voie sous-cutanée, 5 injections de la suspension glycinée de X 19 à raison de 0 c.c. 1 chaque fois; 20 jours après la dernière injection de proteus, il est ponctionné; la réaction de Weil et Felix est positive à + 50; après un repos de 7 jours, on lui injecte, dans la cavité péritonéale le 1/10^e d'un cerveau virulent; après une incubation de 7 jours et une fièvre de 8 jours, il est ponctionné une seconde fois, au 7^e jour d'apyrexie : son sérum agglutine à $\pm$ 50.

Le *cobaye 208* reçoit 5 injections de suspension glycinée; son sérum agglutine à + 100; il est inoculé d'un 1/10^e de cerveau virulent : incubation 8 jours, fièvre 7 jours : la réaction de Weil et Felix est positive à + 25.

Le *cobaye C 207*, dont le sérum agglutinait à + 100, est inoculé de 1/5^e de cerveau virulent; incubation 8 jours, fièvre 6 jours; il est ponctionné, 7 jours après la défervescence : son sérum agglutine au 1/25^e.

Le *cobaye C 208* a reçu 5 injections de proteus de 2 jours en 2 jours; inoculé de virus mondial, il fait un typhus avec une incubation de 9 jours et une fièvre de 5 jours; après 7 jours d'apyrexie, il est ponctionné; la réaction de Weil et Felix est positive à $\pm$ 100.

4. - Cobayes inoculés de Proteus X 19, puis de virus murin

Le *cobaye C 215* reçoit 5 injections de la suspension glycinée de X 19; son sérum agglutine à + 200; il est inoculé de virus mexicain; incubation 3 jours, fièvre 7 jours : il est ponctionné au 7^e jour d'apyrexie; la réaction de Weil et Felix est positive à + 100.

Le *cobaye 220*, dont le sérum agglutinait à + 50, reçoit du cerveau virulent (mexicain), dans la cavité péritonéale; incubation 3 jours, fièvre 6 jours; 7 jours après la défervescence, son sérum agglutine à $\pm$ 50.

Le *cobaye C 221* a reçu 5 injections de proteus X 19; inoculé de virus

mexicain, il fait un typhus net avec une incubation de 6 jours et une fièvre de 8 jours; après une semaine d'apyrexie, il est ponctionné : son sérum agglutine à + 25.

Le *cobaye C 222*, après avoir reçu 5 injections de X 19, agglutine à + 100; il est inoculé du 1/5^e d'un cerveau virulent (virus Mexicain) incubation 8 jours, fièvre 7 jours; ponctionné, son sérum agglutine à $\pm$ 100.

TABEAU V
Cobayes inoculés de *Proteus* S 24, puis d'un virus historique

COBAYES	CULTURES	VOIE D'INOCULA- TION	NOMBRE	1 ^{er} W. et F.	VIRUS	INCUBATION	FIÈVRE	PRÉLÈVEMENT DU SANG	2 ^e W. et F.
105.....	chauf.	s.-cutanée	1	+ 200	Tunis	11	6	19 ^e d'inoculation	+ 100
368.....		in. pér.	1	0	Tunis	7	8	27 ^e d'inoculation	0
C 201.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 100	Tunis	7	8	7 ^e d'apyrexie	+ 50
C 203.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 200	Tunis	6	9	7 ^e d'apyrexie	+ 50
C 204.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 200	Tunis	9	7	7 ^e d'apyrexie	+ 50
C 216.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 500	Tunis	7	6	7 ^e d'apyrexie	+ 50
C 217.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 100	Tunis	8	7	7 ^e d'apyrexie	+ 25
C 225.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 100	Tunis	8	6	7 ^e d'apyrexie	+ 50

TABEAU VI
Cobayes inoculés de *Proteus* S 24, puis d'un virus murin

COBAYES	CULTURES	VOIE D'INOCULA- TION	NOMBRE	1 ^{er} W. et F.	VIRUS	INCUBATION	FIÈVRE	PRÉLÈVEMENT DU SANG	2 ^e W. et F.
C 209.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 100	Toul.	7	6	7 ^e d'apyrexie	$\pm$ 100
C 210.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 500	Toul.	8	8	7 ^e d'apyrexie	+ 200
C 211.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 500	Toul.	6	9	7 ^e d'apyrexie	+ 200
C 212.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 500	Toul.	7	10	7 ^e d'apyrexie	+ 50
C 218.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 100	Mexic	3	7	7 ^e d'apyrexie	+ 50
C 219.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 100	Mexic	4	6	7 ^e d'apyrexie	+ 50

TABEAU VII
Cobayes inoculés de *Proteus* X 19, puis d'un virus historique

COBAYES	CULTURES	VOIE D'INOCULA- TION	NOMBRE	1 ^{er} W. et F.	VIRUS	INCUBATION	FIEVRE	PRÉLÈVEMENT DU SANG	2 ^e W. et F.
C 205.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 50	Tunis	7	8	7 ^o d'apyrexie	± 50
C 206.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 100	Tunis	8	7	7 ^o d'apyrexie	+ 25
C 207.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 100	Tunis	8	5	7 ^o d'apyrexie	+ 25
C 208.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 100	Tunis	9	5	7 ^o d'apyrexie	± 100
C 224.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 100	Tunis	7	6	7 ^o d'apyrexie	± 100

TABEAU VIII
Cobayes inoculés de *Proteus* X 19, puis d'un virus murin

COBAYES	CULTURES	VOIE D'INOCULA- TION	NOMBRE	1 ^{er} W. et F.	VIRUS	INCUBATION	FIEVRE	PRÉLÈVEMENT DU SANG	2 ^e W. et F.
C 215.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 200	Mexic	3	7	7 ^o d'apyrexie	+ 100
C 220.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 50	Mexic	3	6	7 ^o d'apyrexie	± 50
C 221.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 100	Mexic	6	8	7 ^o d'apyrexie	+ 25
C 222.....	glyc.	s.-cutanée	5	+ 100	Mexic	6	7	7 ^o d'apyrexie	± 100

CONCLUSIONS :

L'inoculation d'un bacille *proteus* produit, chez le cobaye, des agglutinines dont le taux n'est pas influencé par l'inoculation ultérieure d'un virus typhique.

*
* *

Il résulte de toutes ces expériences, que les cobayes ont une réelle aptitude à produire des agglutinines anti-*proteus*; mais, seule, l'inoculation des bacilles eux-mêmes est suivie de l'apparition de ces anti-corps que les virus typhiques, dans aucun des cas étudiés par nous jusqu'à présent, ne sont capables de déterminer.

CHAPITRE III

DEUXIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES

MODIFICATIONS APPORTÉES AUX CONDITIONS D'INOCULATION DU VIRUS : LEUR INFLUENCE SUR LA RÉACTION DE WEIL ET FELIX CHEZ LE COBAYE

Le virus, dans les fièvres exanthématiques expérimentales, se localise, avons-nous dit, dans le cerveau des animaux infectés.

Il était difficile, voire impossible, de faire subir des modifications au virus, étant donnée la fragilité de ce dernier; mais les effets du virus peuvent être différents selon la voie par laquelle on l'inocule. Ch. Nicolle et E. Conseil [37], en l'inoculant par voie cérébrale, ont déterminé chez l'âne une infection typhique à allure fébrile, qu'ils n'avaient pas obtenue par les autres voies, sous-cutanée et intrapéritonéale.

Il était intéressant de voir si, en modifiant la voie d'introduction du virus chez le cobaye, on ne permettrait pas à la réaction de Weil et Felix d'apparaître.

1° Inoculation intracérébrale

Les cobayes C 6, C 7 et C 8 sont inoculés dans l'un des hémisphères cérébraux [6] avec une suspension dense de cerveau du cobaye Toulon C 289.

Le *cobaye C 6*, après une incubation de 10 jours, fait une fièvre de 7 jours; ponctionné à la défervescence, son sérum n'agglutine par le proteus X 19,

Le *cobaye C 7*, incubation 8 jours, fièvre 7 jours, est saigné par ponction cardiaque au premier jour d'apyrexie; son sérum, éprouvé par la méthode de Weil et Felix, se montre négatif.

Le *cobaye C 8*, incubation 8 jours, fièvre 6 jours, est ponctionné le 14^e jour de l'inoculation; son sérum est dépourvu de tout pouvoir agglutinant vis-à-vis du proteus X 19.

2° Inoculation intrapleurale

Trois cobayes sont inoculés dans la cavité pleurale; chacun d'eux reçoit 1 c.c. d'une suspension dense du cerveau du cobaye Tunis C 264.

Le *cobaye C 274*, après une incubation de 6 jours, fait une fièvre de 6 jours; ponctionné le premier jour d'apyrexie, son sérum n'agglutine pas le X 19.

Le *cobaye C 275*, incubation 12 jours, fièvre 4 jours, est saigné par ponction cardiaque le 17^e jour d'inoculation : réaction de Weil et Felix négative.

Le *cobaye C 278*, incubation 12 jours, fièvre 5 jours, est ponctionné à la défervescence : agglutination nulle.

3° Inoculation intracardiaque

On injecte dans le cœur de 3 cobayes, 1 c.c. d'une suspension de cerveau du cobaye Toulon C 57. Cette suspension a été centrifugée une minute à 800 tours.

Le *cobaye C 74*, après une incubation de 9 jours, fait une courbe fébrile d'une durée de 8 jours : ponctionné à la défervescence, son sérum est dépourvu de tout pouvoir agglutinant vis-à-vis du proteus X 19.

Le *cobaye C 75*, incubation 5 jours, fièvre 4 jours, est saigné par ponction cardiaque; agglutination nulle.

Le *cobaye C 76*, suivi pendant 20 jours, ne présente aucune évélation thermique; éprouvé avec un cerveau virulent, par inoculation intrapéritonéale, il meurt le 6^e jour; son sang qui a été prélevé au 20^e jour de la première inoculation, n'agglutine pas le X 19.

La réaction de Weil et Felix, effectuée avec les sérums des cobayes C 74 et C 75 n'est pas franchement négative. Nous avons constaté, après 24 heures de repos à la température du laboratoire, un dépôt assez abondant. Ce dépôt microbien laissait, à la dilution de 1/25, un liquide surnageant limpide; par agitation du tube, de dépôt est remis en suspension pour se reformer après 3 heures de repos. Ce phénomène n'est pas constaté dans le tube témoin et avec les sérums de cobayes normaux et de cobayes inoculés par toute autre voie.

4° Inoculation sous-cutanée

Quatre cobayes reçoivent, sous la peau du flanc, 2 c.c. d'une suspension dense de cerveau virulent.

Le *cobaye C 252* reçoit 2 c.c. d'une suspension de cerveau du cobaye Toulon 75; suivi jusqu'au 21^e jour il ne présente aucune élévation thermique; son sérum ne donne pas la réaction de Weil et Félix. (L'épreuve d'immunité n'a pas été effectuée).

Le *cobaye C 259* est inoculé avec 2 c.c. d'une suspension dense de cerveau congelé [21] du cobaye Toulon 83. Après 14 jours d'incubation, l'animal fait une courbe fébrile de 3 jours; ponctionné le 18^e jour de l'inoculation, son sérum ne possède aucune propriété agglutinante vis-à-vis du proteus X 19.

Le *cobaye C 260* est inoculé avec le cerveau congelé du cobaye Tunis C 253; il ne présente aucune élévation de température; saigné le 24^e jour de l'inoculation : réaction négative.

Le *cobaye C 266* reçoit 2 c.c. de la suspension de cerveau du cobaye Toulon 91; après une incubation de 17 jours, il fait une courte infection de 3 jours; son sérum, prélevé à la défervescence, n'agglutine pas le X 19.

5° L'addition d'un virus étranger ne favorise pas la formation d'agglutinines anti-proteus

VIRUS TYPHIQUE ET VIRUS AMARIL.

Le virus amaril que nous avons employé est celui que Max Theiler a adapté à la souris et que Jean Laigret entretient à l'Institut Pasteur

de Tunis depuis 1931 par passages de cerveau à cerveau. Ce virus n'est pas pathogène pour le cobaye et ne détermine aucune infection à allure fébrile chez cet animal.

Le *cobaye C 42* est inoculé avec le 1/5 de cerveau du cobaye Toulon C 13 et, en même temps, avec la moitié du cerveau de la souris FY 782, après une incubation de 12 jours, il fait une fièvre qui dure 5 jours; une hypothermie brusque nous oblige à le ponctionner : son sérum est dépourvu de tout pouvoir agglutinant vis-à-vis du proteus X 19.

Le *cobaye C 43* reçoit, dans la cavité péritonéale, le 1/5^e du cerveau du cobaye Toulon C 13 et la moitié du cerveau de la souris FY 782 : incubation 12 jours, fièvre 5 jours; ponctionné à la défervescence, la réaction de Weil et Felix est négative.

Par suite de la mort des deux cobayes, le pouvoir protecteur des sérums contre l'infection amarile n'a pas été recherché.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE.

En résumé, les voies d'inoculation importent peu dans la formation d'agglutinines. Toutefois, l'inoculation intracardiaque paraît avoir donné, dans certains cas, des résultats qu'on peut considérer comme correspondant à une ébauche de pouvoir agglutinant des sérums. L'addition d'un virus étranger ne permet pas à la réaction de Weil et Felix d'apparaître chez le cobaye typhique.

CHAPITRE IV

TROISIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES

MODIFICATIONS APPORTÉES AUX BACILLES PROTÉES INFLUENCE DE CES MODIFICATIONS SUR LA RÉACTION DE WEIL ET FELIX DU COBAYE

1° Une forte concentration en Cl Na gêne la réaction de Weil et Felix

Nous avons préparé plusieurs solutions de Cl Na à des concentrations différentes. Les agglutinations ont été effectuées avec ces solutions salines, en présence de sérums humains agglutinant fortement le X 19 et en présence de sérums de cobayes typhiques. Le sérum humain agglutinait normalement le X 19 à 1/2.000.

RÉSULTATS DES AGGLUTINATIONS

CONCENTRATION EN Cl Na	TAUX D'AGGLUTINATION du sérum humain	TAUX D'AGGLUTINATION du sérum de cobaye
350 gr. par litre.....	+ 100	0
175 gr. par litre.....	+ 500	0
88 gr. par litre.....	± 800	0
44 gr. par litre.....	+ 800	0
22 gr. par litre.....	+ 1.000	0
11 gr. par litre.....	+ 2.000	0
7 gr. par litre.....	+ 2.000	0

**2° Le proteus X 19 est rapidement agglutiné à + 50°,
mais en fin de réaction,
le résultat est le même qu'après 2 heures d'étuve
et un séjour de 24 heures à la température du laboratoire**

Avec le même sérum humain, agglutinant le proteus X 19 à 2.000, nous avons effectué plusieurs agglutinations à des températures différentes : + 15°, + 37°, + 50°, + 65°. Les lectures ont été faites après 1 heure, 3 heures, 9 heures, 24 heures.

RÉSULTATS

LECTURE APRÈS :	1 HEURE	3 HEURES	9 HEURES	24 HEURES
Agglutination à + 15°..	0	+ 500	+ 1.000	+ 2.000
Agglutination à + 37°..	+ 100	+ 1.000	+ 1.000	+ 2.000
Agglutination à + 50°..	+ 200	+ 1.000	+ 1.000	+ 2.000
Agglutination à + 65°..	± 200	± 1.000	± 1.000	± 1.000

La température de + 50°, semblant accélérer le phénomène de l'agglutination, nous avons placé à cette température des mélanges de suspension fraîche de proteus X 19 et de sérums de cobayes typhiques. Nous n'avons constaté aucune agglutination.

3° Le sérum de cobaye typhique ne précipite pas par un lysat de proteus X 19

Une émulsion en eau distillée d'une culture sur gélose inclinée, âgée de 24 heures, est abandonnée à la glacière et agitée tous les jours. Après un mois, on la centrifuge fortement; le liquide clair surnageant est décanté et additionné d'une quantité de Cl Na nécessaire pour amener la concentration en ce sel à 7 gr. par litre.

On effectue l'agglutination avec le même protocole, le lysat remplaçant l'émulsion microbienne.

Nous n'avons constaté aucune précipitation avec les sérums de cobayes typhiques. Avec les sérums humains et les sérums d'animaux expérimentalement infectés de typhus, nous avons vu une très faible opalescence qui ne se rencontrait pas avec les sérums normaux.

4° Les cultures chauffées de proteus X 19 ne sont pas plus sensibles à l'agglutination que les cultures fraîches

Sachs [51] a constaté, comme l'avait fait Dietrich, que le X 19 chauffé à + 56° n'était plus agglutinable. En étudiant l'effet du chauffage sur l'agglutinabilité du proteus X 19, il a vu que, si l'on dépassait cette température de 56°, les microbes redevenaient agglutinables et conservaient cette propriété alors qu'ils avaient été chauffés à + 100°.

L'optimum est, d'après cet auteur, à 80°; chauffés à cette température, écrit-il, les microbes s'agglutinent souvent beaucoup mieux que les microbes vivants; non seulement le taux d'agglutination est supérieur, mais les amas sont beaucoup plus gros; par contre, l'agglutination des bacilles chauffés est notablement plus lente que celle des bacilles vivants; au lieu de 60 minutes, ces derniers demandent 2 à 3 heures.

Schiff [53] confirmant ces expériences, nous avons effectué toute une série d'agglutinations avec une suspension de proteus X 19 chauffée 1 heure à 80° et des sérums de cobayes, expérimentalement infectés de typhus mondial et murin. Nous n'avons constaté aucune agglutination dans tous les cas.

5° Le proteus X 19 « fragilisé » par la méthode de Porgès ne se montre pas agglutinable par le sérum de cobayes typhiques

Nous avons cherché à rendre le proteus X 19 plus sensible à l'agglutination afin de pouvoir déceler, dans le sérum des cobayes typhi-

ques, des traces d'anticorps, insuffisants pour agglutiner les bacilles normaux. Dans ce but, nous avons essayé de « fragiliser » le *proteus* par la méthode de Porgès, en nous inspirant des travaux de Maurice Nicolle [41] et de ses collaborateurs, sur le gonocoque.

MÉTHODE DE PORGÈS.

Dans un tube à essai stérile, on emulsionne 0,1 gr. de microbes secs dans 20 c.c. d'eau physiologique, que l'on additionne de 0,1 c.c. de solution normale d'acide sulfurique. Le tube est placé 5 minutes au bain marie bouillant; on refroidit sous un courant d'eau froide et on neutralise au moyen de 0,1 c.c. de soude normale [50].

Maurice Nicolle, en employant une suspension de gonocoques ainsi traitée, a obtenu des agglutinations de l'ordre du 1/100 avec des sérums de blennorragiques dont le pouvoir agglutinant était nul, vis-à-vis d'une suspension de gonocoques non traités.

Nous avons effectué des réactions d'agglutination avec des sérums de cobayes typhiques et une suspension de *proteus* X 19, traitée par la méthode de Porgès. Même à la dilution de 1/5, nous n'avons constaté aucune agglutination.

6° Le sérum des cobayes typhiques est sans action sur le *proteus* traité par les alcalis

1. — Une suspension à 4 milliards de *proteus* par c.c. est additionnée d'ammoniaque à raison de 1 c.c. d'ammoniaque pour 10 c.c. de suspension bactérienne.

Après quelques minutes, le milieu s'éclaircit; la richesse microbienne tombe à 1 milliard environ; le liquide devient sirupeux, mais reste homogène.

A l'examen direct et après coloration, les éléments microbiens sont beaucoup plus petits, plus grêles, et retiennent moins bien les colorants d'aniline.

L'agglutination est effectuée avec cette suspension et des sérums divers,

RÉSULTATS

AGGLUTINATION AVEC :	LE PROTEUS X 19	AVEC LA SUSPENSION alcaline
Sérum humain agglutinant le X 19 à.....	+ 6.400	+ +
Sérum de lapin C 256.....	+ 100	0
Sérum de cobaye normal.....	0	0
Sérum de cobaye Toulon C 284 (5 ^e jour de fièvre).....	0	0
Sérum humain normal.....	0	0
Sérum de cobaye Toulon (20 ^e jour d'ino- culation).....	0	0
Sérum de cobaye Tunis L 88 (6 ^e jour de fièvre).....	0	0
Sérum de lapin C ^e 298 anti X 19.....	+ 2.000	+

Le phénomène de l'agglutination apparaît non pas sous forme de grumeaux, mais sous forme de filaments qui se déposent au fond des tubes.

2. — La même suspension est neutralisée au moyen d'acide acétique; le milieu se trouble, s'opacifie, quelques filaments montent à la surface du liquide; on filtre sur gaze et l'agglutination est effectuée avec les mêmes sérums que plus haut.

Le sérum de convalescent agglutine fortement, ainsi que celui du lapin C. 298; avec tous les autres sérums, on obtient un résultat négatif.

7° Une suspension de proteus X 19, mise en contact avec une solution de tanin, reste inagglutinable

Une suspension de X 19 est additionnée d'une solution de tanin à 5 % à raison de 1 volume de la solution tannique pour 9 parties de l'émulsion microbienne : il se forme un précipité brun qui tombe au fond du tube; après 24 heures de contact, on filtre sur gaze et on

additionne l'émulsion homogène des mêmes sérums que plus haut. On ne constate aucune agglutination; dans certains tubes, il s'est formé un louche dû, sans doute, à la précipitation des protides sanguins par le tanin restant en solution.

8° Le proteus X 19, passé par cobayes typhiques, conserve ses mêmes propriétés d'agglutinabilité

Pour expliquer la négativité de la réaction de Wiel et Felix on aurait pu être tenté d'admettre qu'au contact du sang ou des tissus du cobaye le proteus perdait sa propriété agglutinable.

Le *cobaye C 292*, inoculé avec le cerveau virulent du cobaye C 282, reçoit, au 4^e jour de fièvre, dans la cavité péritonéale 1 c.c. d'une suspension de proteus X 19 à 5 milliards de germes par c.c.

L'animal meurt en 15 heures; à *l'autopsie*, péritonite, congestion intense de tous les organes, péricardite; liquide d'ascite louche; à *l'examen direct*, on trouve de nombreux bacilles, gram négatifs, dans les frottis d'organes; après culture du sang et du liquide d'ascite, sur gélose inclinée : présence du proteus X 19 en colonies O (proteus 1).

Un c.c. de sang et de liquide d'ascite sont injectés dans la cavité péritonéale du cobaye C 295.

Le *cobaye C 295*, inoculé avec le cerveau virulent du cobaye C. 282, reçoit, au 7^e jour de fièvre, le mélange de sang et d'ascite du cobaye C 292; mort en moins de 20 heures.

A *l'autopsie*, péritonite suppurée, ascite louche.

A *l'examen direct*, nombreux bacilles gram négatifs dans tous les frottis d'organes.

Après culture : obtention de colonies O sur gélose humide (proteus 2).

1 c.c. de sang et 1 c.c. d'ascite sont injectés dans le péritoine du cobaye C 294.

Le *cobaye C 294*, inoculé avec le cerveau virulent du cobaye C 282, reçoit, au 5^e jour de fièvre 1 c.c. du mélange sang et ascite du cobaye C. 295 : mort en 15 heures.

A *l'autopsie*, péritonite, congestion intense des organes, même du tissu sous-cutané.

A *l'examen direct*, nombreux bacilles gram négatifs dans tous les frottis d'organes.

Après culture, obtention de colonies O sur gélose humide (proteus 3).

1 c.c. de sang et 1 c.c. d'ascite sont injectés dans le péritoine du cobaye C 8.

Le *cobaye* C 8, inoculé par voie cérébrale avec le cerveau du cobaye C. 289, reçoit, au 6^e jour de fièvre, le mélange de sang et d'ascite du cobaye C 296 : mort en 10 heures.

A *l'autopsie*, péritonite, congestion des organes, vésicule biliaire dure et blanche.

A *l'examen direct*, nombreux bacilles gram négatifs dans tous les frottis d'organes.

Après culture, obtention de colonies O sur gélose humide (proteus 4)

Les proteus 1, 2, 3 et 4 sont mis en contact avec :

Un sérum de lapin typhique agglutinant le X 19 à + 100;

Un sérum de convalescent agglutinant le X 19 à + 2.000;

Un sérum de convalescent agglutinant le X 19 à + 6.400;

Un sérum de convalescent agglutinant le X 19 à + 10.000.

Nous n'avons constaté aucune modification dans l'agglutinabilité des proteus, même après 4 passages par cobayes typhiques.

Remarquer l'obtention constante de colonies O sur gélose humide.

Nous avons effectué la même expérience en remplaçant les cobayes typhiques par des cobayes neufs et nous avons obtenu les mêmes résultats.

CONCLUSION.

Tous les moyens utilisés échouent. Quelles que soient les modifications qu'on apporte à l'état des proteus, il est impossible de déceler même des traces d'agglutinines chez le cobaye au cours du typhus.

ADDENDUM AU CHAPITRE IV

SÉRO RÉACTIONS AUTRES QUE LA RÉACTION DE WEIL ET FELIX CHEZ LE COBAYE TYPHIQUE

1. — Réaction de précipitation

Lisbonne et Carrère (24) constatent que le sérum d'homme, atteint de typhus, possède une action précipitante sur une culture de X 19, en eau peptonée, filtrée sur Berkefeld.

On filtre à travers une bougie Berkefeld une culture de 48 heures, en eau peptonée, de proteus X 19. Dans trois tubes à séro-réaction, on ajoute à 50 gouttes de culture filtrée, respectivement IV, VIII, XII gouttes de sérum de typhique.

Après 4 heures d'éluve à 37°, on note l'existence, dans les 3 essais, d'une précipité floconneux, net, peu abondant qui, se disposant le long des parois, se laisse ensuite lentement au fond du tube. Au bout de 24 heures à la température du laboratoire, les résultats sont définitivement acquis.

Lisbonne et Carrère reconnaissent à cette réaction une spécificité très marquée.

Nous avons répété cette expérience avec des sérums d'hommes convalescents de typhus et agglutinant le X 19 au 1/24.000 et au 1/27.600, avec des sérums d'animaux d'expériences agglutinant au 1/500.

Contrairement au fait annoncé par les auteurs, nous n'avons constaté aucune précipitation.

La réaction, effectuée avec des sérums de cobayes typhiques, s'est montrée également négative.

2. — Réaction de floculation

A partir des corps microbiens, nous avons préparé un extrait alcoolique de la façon suivante :

Des cultures de X 19, ensemencées en boîte de Roux, sont émulsionnées en eau physiologique stérile; on additionne cette suspension d'alcool à 95° pour tuer les germes et diminuer la densité du liquide; on centrifuge; le culot de corps microbiens est placé dans un dessiccateur à Cl² Ca, dans lequel on fait le vide; après 24 heures, on obtient une poudre blanche, formée par les corps microbiens secs de proteus X 19. On laisse macérer 0 gr. 25 de cette poudre dans 10 c.c. d'alcool éthylique absolu, en agitant tous les jours; après un mois, on centrifuge à grande vitesse; le liquide surnageant constitue l'extrait alcoolique.

Pour l'emploi, nous avons dilué cet antigène à 1/20 au moyen d'eau physiologique : à 1 c.c. de la suspension opaque obtenue, nous avons ajouté des doses croissantes de sérum de cobayes inoculés de typhus et ponctionnés à la défervescence : les témoins étaient constitués par des sérums d'hommes et des sérums d'animaux, agglutinant le X 19 à des taux élevés.

Dans aucun des tubes, nous n'avons constaté de floculation.

Nous avons préparé de la même manière des extraits au moyen d'alcool méthylique ou d'éther; les mêmes résultats négatifs ont été obtenus.

3. — Réaction de fixation du complément

Rappelons d'abord [42-47], qu'entre les mains de nombreux expérimentateurs, cette réaction s'est toujours montrée négative dans le typhus. Nous en avons repris l'étude dans l'idée de chercher si, en variant les antigènes, on n'obtiendrait pas, avec les sérums de cobayes typhiques, la mise en évidence d'anticorps spécifiques.

Nous avons successivement utilisé, comme antigène, une suspension des mêmes bacilles chauffés, une suspension de bacilles proteus phéniqués, une culture lysée de bacilles protéés, un extrait alcoolique de X 19, enfin deux suspensions de rickettsia d'origine différente.

La technique de préparation des antigènes, constitués par des suspensions microbiennes, ne comporte aucune particularité qui mérite d'être rapportée. Le pouvoir anticomplémentaire de tels antigènes est, en général, élevé; il est nécessaire de le réduire par dilution après

titrage. Nous avons toujours ajusté la densité microbienne des suspensions de manière que leur pouvoir anticomplémentaire ne dépasse pas le degré correspondant à 0,10 c.c. d'alexine à 1/10.

Les cultures lysées ont été préparées de la manière suivante : une culture de X 19 sur gélose, âgée de 24 heures, est émulsionnée en eau distillée et la suspension microbienne abandonnée pendant 15 jours à la glacière. On ajoute alors du Cl Na de manière à amener la concentration en ce sel à 9 gr. par litre.

La macération alcoolique de X 19, dont nous nous sommes servi comme antigène, est celle que nous avons utilisé déjà pour la réaction de floculation.

Enfin, comme suspension de rickettsia, nous avons employé les deux vaccins antityphiques préparés, l'un par Weigl avec les rickettsia du pou, l'autre par Zinsser avec les rickettsia de la tunique vaginale des rats.

Rappelons, brièvement, les méthodes de préparation de ces deux produits :

Weigl inocule le virus typhique aux poux, par voie rectale, à l'aide d'une fine pipette. Cinq jours après cette opération, l'intestin des poux est une véritable culture de rickettsia. On prélève ces intestins par dissection, on les broye en eau physiologique et on ajoute de l'acide phénique. Ce vaccin protège expérimentalement contre le typhus. Il est largement employé chez l'homme dans certains pays, la Chine par exemple.

Zinsser utilise, pour la préparation de son vaccin, les tuniques vaginales de rats, inoculés de typhus murin et soumis à l'action des rayons X. L'irradiation provoque la pullulation des microorganismes dans la cavité vaginale. Les tuniques sont agitées en eau physiologique. On obtient une suspension de rickettsia qu'on tue par le formol. Le vaccin de Zinsser protège expérimentalement contre le typhus.

Tels sont les deux produits que nous avons utilisés comme anti-gènes-rickettsia pour la réaction de déviation du complément avec les sérums des cobayes typhiques, parallèlement avec les autres antigènes désignés ci-dessus.

La technique, adoptée pour les réactions, a été celle de Calmette et Massol à doses croissantes d'alexine.

Sérum hémolytique, alexine et antigène ont été d'abord titrés suivant les procédés classiques, puis mis en contact selon le schéma suivant :

	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.
Sérum à examiner inactivé	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	»	»	»	»	»
Antigène dilué	0.3	0.3	0.3	0.3	»	»	»	»	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Alexine à 1/10 titrée. . . .	0.1	0.15	0.20	0.25	0.1	0.15	0.20	0.25	0.1	0.15	0.20	0.25	0.1
Eau physiologique	1.4	1.35	1.30	1.25	1.70	1.65	1.60	1.55	1.6	1.55	1.50	1.45	1.4
1 HEURE D'ÉTUVE A 37° C.													
Globules rouges sensibilisés d'après titrage (1)..	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Résultats

1° EN PRÉSENCE DE LA SUSPENSION DE BACILLES PROTEUS VIVANTS.

32 sérums ont été éprouvés; ils provenaient de 27 cobayes, 3 lapin (un lapin typhique agglutinant le X 19 à 1/200 et deux lapins préparés au moyen d'une suspension de X 19 agglutinant à + 2.000, et un sérum humain).

Les résultats ont été légèrement positifs pour les sérums de lapins préparés contre le proteus; ils ont été négatifs avec tous les sérums typhiques.

(1) Les globules rouges de mouton ont été sensibilisés à 2 unités et demi de sérum hémolytique. Le titrage du pouvoir anticomplémentaire des antigènes, ayant donné la dose minima d'alexine qui assure l'hémolyse, pour la séro-réaction, et dans le dessein de ne pas recourir à des doses strictement limitées, qui sont souvent la cause de nombreux insuccès, nous avons employé cette dose augmentée de 0 c.c. 05 (50).

2° EN PRÉSENCE D'UNE SUSPENSION DE BACILLES PROTEUS TUÉS
PAR LA CHALEUR.

Les mêmes sérums que ci-dessus ont été éprouvés; *les résultats ont été négatifs avec tous les sérums typhiques.*

3° EN PRÉSENCE D'UNE SUSPENSION PHÉNIQUÉE DE BACILLES
PROTEUS.

Papamarku [43], en utilisant un bel antigène, a obtenu des résultats positifs dans un certain nombre de cas avec les sérums de typhiques; nous avons éprouvé 15 sérums de cobayes, un sérum de lapin et deux sérums humains avec cet antigène.

Les résultats ont été négatifs avec tous les sérums typhiques.

4° EN PRÉSENCE DE CULTURE LYSÉE.

22 sérums de cobayes, 1 sérum de lapin et 2 sérums humains ont été éprouvés; *les résultats ont été négatifs avec tous ces sérums typhiques.*

5° EN PRÉSENCE D'EXTRAIT ALCOOLIQUE DE X 19.

18 sérums de cobayes, 1 de lapin et 1 sérum humain ont été éprouvés.

Les résultats ont été négatifs avec tous les sérums typhiques.

6° EN PRÉSENCE D'UNE SUSPENSION DE RICKETTSIA.

Le vaccin de Zinsser et celui de Weigl ont été dilués à 1/10. 44 sérums de cobayes, 1 sérum de lapin et 2 sérums humains ont été éprouvés.

Les résultats ont été négatifs avec tous les sérums typhiques.

Pour l'interprétation de ces résultats, il est utile de considérer que nous avons opéré avec deux catégories de sérums : les uns provenaient d'animaux non typhiques, inoculés avec des cultures de bacilles proteus. Ils ont donné, comme on devait s'y attendre, des ré-

sultats positifs en présence des mêmes bacilles, utilisés comme antigène.

Les autres sérums provenaient d'animaux et d'hommes typhiques. Tous ont donné des résultats négatifs avec les divers antigènes utilisés.

Il n'est donc pas possible d'espérer que la réaction de déviation du complément, ni la réaction de floculation ou de précipitation, ci-dessus étudiées, puissent remplacer la réaction de Weil et Felix chez le cobaye typhique.

4. — Réactions d'agglutination vis à vis de différents germes n'appartenant pas au groupe *Proteus*

Il était intéressant de chercher si, n'ayant aucune action sur le *proteus* X 19, le sérum des cobayes typhiques n'agglutinerait pas une bactérie voisine, comme le bacille pyocyanique. Reprenant les travaux de Charles Nicolle [35], nous avons également cherché l'action du sérum de cobaye typhique sur *Brucella melitensis* et en même temps sur *Brucella abortus*.

Trois souches de bacilles pyocyaniques ont été utilisées :

Le bacille pyocyanique P, souche de l'Institut Pasteur de Paris;

Le bacille pyocyanique, variété Gessard;

Le bacille pyocyanique PY, isolé à l'Institut Pasteur de Tunis.

Plusieurs lots de cobayes ont été examinés; cobayes inoculés de virus mondial, cobayes inoculés de virus murin de Toulon ou de Mexico, tous ont donné une réaction franchement négative, même à la dilution de 1/10.

Nous avons employé plusieurs souches de *Brucella melitensis* :

Br. melitensis Mn, de l'Institut Pasteur de Paris;

Br. melitensis 5, isolée à Tunis;

Br. melitensis Soria, isolée à Tunis;

Br. melitensis Morana, isolée à Tunis.

Aucune de ces souches n'a été agglutinée par différents sérums de cobayes typhiques, ponctionnés au premier jour de la défervescence.

Avec des souches de *Br. abortus*, de provenances différentes, nous avons effectué des agglutinations qui, toutes, ont été franchement négatives,

CHAPITRE V

QUATRIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES

MODIFICATIONS APPORTÉES AU SÉRUM DE COBAYE. LEUR INFLUENCE SUR LA RÉACTION DE WEIL ET FELIX

I. — MODIFICATIONS APPORTÉES AU SÉRUM DE COBAYE IN VITRO

1° Les sérums chauffés des cobayes typhiques se comportent de la même manière que les sérums frais

Des échantillons des 24 sérums étudiés (page 17) ont été chauffés au bain marie à 56°, les uns pendant 15 minutes, d'autres pendant 30 minutes, d'autres enfin pendant une heure. Ils ont été refroidis rapidement sous un courant d'eau et soumis à la réaction de Weil et Felix.

Tous ont donné *un résultat négatif*.

2° La négativité de la réaction n'est pas due à l'absence chez le cobaye d'une substance spéciale nécessaire à l'agglutination et existant chez les autres espèces animales

PREMIÈRE EXPÉRIENCE.

Le sérum du cobaye Tunis 83 recueilli par ponction cardiaque, le jour de la défervescence ⁽¹⁾, est distribué dans 10 tubes à raison de

(1) C'est le moment que nous avons jugé le plus favorable pour déceler les anticorps dans le sérum de cobaye typhique; dans toutes les expériences qui vont suivre, le terme de sérum de cobaye typhique signifiera que l'animal aura été ponctionné le jour même de la défervescence. Dans d'autres circonstances, le jour de la ponction sera indiqué.

0,2 c.c. par tube; on l'additionne de doses croissantes de sérum humain *fraichement recueilli* et dont le pouvoir agglutinant est nul à la dilution de 1/10 vis-à-vis du proteus X 19. On ajoute l'eau physiologique et la suspension microbienne, dosée à 4 milliards de germes par centimètre cube, de manière à obtenir une dilution de sérum de cobaye à 1/25, selon schéma suivant :

TUBES	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.
Sérum de cobaye typhique en c.c.....	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Sérum humain frais en c.c.....	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	0,45	0,20
Eau physiologique en c.c.....	3,20	3,15	3,10	3,05	3,00	2,95	2,90	2,85	2,80	2,75
Suspension microbienne en c.c.....	1,55	1,55	1,55	1,55	1,55	1,55	1,55	1,55	1,55	1,55

Les tubes sont laissés 2 heures à l'étuve et 24 heures à la température du laboratoire : *l'agglutination est nulle*.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE.

Des doses fixes, 0,50 c.c. de sérum humain, *frais*, sont additionnées de doses croissantes, 0,20 à 0,65 c.c. de sérum du cobaye 89, inoculé de virus historique.

L'agglutination est conduite selon le schéma suivant : il a fallu tenir compte :

1° Que la dilution du sérum humain ne devait pas être inférieure à 1/10;

2° Que la dilution du sérum de cobaye devait être de l'ordre du 1/25.

TUBES	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.
Sérum humain frais en c.c.....	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Sérum de cobaye ty- phique en c.c.....	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	0,45	0,50	0,55	0,60	0,65
Eau physiologique en c.c.....	2,75	3,60	4,45	5,30	6,10	6,90	7,25	0,55	9,40	10,20
Emulsion microbien- ne en cc.....	1,55	1,90	2,25	2,60	3,00	3,40	3,75	4,15	4,50	4,90

L'agglutination est nulle.

TROISIÈME EXPÉRIENCE.

On ajoute à du sérum de cobaye typhique des quantités variables de sérum humain, *inactivé* par chauffage au bain marie à 56° pendant 30 minutes, et on effectue la réaction de Weil et Felix selon le protocole décrit plus haut (première expérience) : *pas d'agglutination*.

De même, des doses fixes de sérum humain *inactivé*, additionnées de quantités croissantes de sérum de cobaye typhique, ne permettent pas de faire apparaître la réaction.

QUATRIÈME EXPÉRIENCE.

Dans le même ordre d'idées, nous avons substitué au sérum humain tantôt du sérum de lapin fraîchement recueilli, tantôt le même sérum de lapin *inactivé* par chauffage d'une 1/2 heure à 56°; le sérum du lapin employé était dépourvu de tout pouvoir agglutinant vis-à-vis du X 19.

Doses fixes de sérum de cobaye, doses croissantes de sérum de lapin frais ou *inactivé*, quantités fixes de sérum de lapin, quantités variables de sérum de cobaye, d'aucune manière la réaction de Weil et Felix n'a paru positive.

CONCLUSION.

En ajoutant, au sérum de cobayes typhiques, des sérums normaux d'homme ou de lapin, on ne fait pas apparaître la réaction de Weil et Felix. La négativité de la réaction n'est pas due à l'absence d'un élément, existant chez les autres espèces animales.

3° La négativité de la réaction chez le cobaye n'est pas due à l'intervention d'une substance empêchante

Nous avons fait, sur ce point particulier, deux séries d'expériences.

PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES.

On sait qu'il est possible, par des moyens simples, de séparer les protides constituant les sérums. L'action du sulfate d'ammonium à demi-saturation, par exemple, précipite les globulines et laisse en solution les sérines.

Pour ce qui est des anticorps, on sait que ceux-ci, et en particulier les agglutinines, précipitent d'ordinaire avec les globulines.

Supposant l'existence dans le sérum des cobayes d'une substance empêchante, nous avons eu l'idée que, peut-être, cette substance se montrerait séparable des agglutinines sous l'action du sulfate d'ammonium. S'il en était ainsi, on devait réussir, en isolant les agglutinines, à faire apparaître la réaction de Weil et Felix chez le cobaye.

Nous devons, avant tout, nous assurer que les agglutinines anti-proteus des sérums typhiques répondent à la loi générale, c'est-à-dire sont réellement entraînées avec les globulines au cours de la précipitation par le sulfate d'ammonium. Nous l'avons d'abord vérifié sur un sérum d'âne expérimentalement préparé contre le typhus; la possibilité d'opérer sur de grandes quantités de ce sérum nous a guidé dans son choix. La vérification a été étendue ensuite à des sérums humains typhiques, puis à des sérums de lapins et de rats.

Voici comment nos essais ont été conduits et les résultats qu'ils ont donnés ;

1° *Sérum d'âne* (âne J 2, immunisé contre le virus de Toulon). Ce sérum agglutine le proteus X 19 à 1/200.

Dans un verre à pied, 20 c.c. de sérum d'âne sont additionnés d'un égal volume de solution saturée de sulfate d'ammonium. On agite et on laisse reposer 2 heures, puis on jette le tout sur un filtre.

Le précipité est lavé au moyen d'une solution aqueuse de sulfate d'ammonium à demi-saturation et les eaux de lavage sont jointes au filtrat. Le précipité est dissous dans une quantité d'eau distillée égale au volume initial du sérum, c'est-à-dire 20 c.c. La solution obtenue contient en totalité la sérum-globuline.

Le filtrat et les eaux de lavage sont additionnés d'eau distillée de manière à obtenir une solution représentant la sérum-albumine diluée 10 fois.

Les agglutinations sont effectuées sur ces deux fractions, solution de sérum-globuline diluée à 3/50 et solution de sérum-albumine à 30/50.

Résultats : portion globulinique	=	+ 1/200
portion sérique	=	0

2° *Sérum d'homme* convalescent de typhus, agglutinant le proteus X 19 à 1/6.400.

10 centimètres cubes de ce sérum sont traités par 10 centimètres cubes de sulfate d'ammonium en solution saturée et le précipité redissous dans 10 centimètres cubes d'eau distillée : le filtrat est dilué avec : eau distillée Q.S. pour 100 c.c.

Les réactions d'agglutination donnent comme résultat :

Sérum-globuline	=	+ 1/6.400
Sérum-albumine	=	0

La séparation des constituants protéiques est faite ensuite sur un autre sérum humain, agglutinant le proteus X 19 à 1/24.000; les mêmes résultats sont obtenus.

3° *De même chez le rat et le lapin typhiques*, seule la solution de globuline agglutine le X 19.

Il est donc bien exact que les agglutinines des sérums typhiques précipitent avec la portion « globulines ». Cette vérification étant faite, nous avons appliqué la méthode de séparation des protides à des sérums de cobayes,

4° *Sérums de cobayes*. Les cobayes 63 et 65, inoculés du virus historique, sont ponctionnés; les sérums traités par une solution saturée de sulfate d'ammonium, selon le « *modus faciendi* » décrit plus haut, les deux solutions, sérum-globuline et sérum-albumine, sont additionnées d'une suspension de proteus de Weil et Felix; nous ne constatons aucune agglutination.

Les sérums des cobayes mexicains 61, 66, 68, ceux des cobayes Toulon 143, 147, sont également fractionnés en leurs deux principaux constituants protéiques : la solution globulinique, de même que la solution de sérum-albumine, sont dépourvues de tout pouvoir agglutinant vis-à-vis du proteus X 19.

De cette première série d'expériences, on peut conclure que la substance empêchante, si elle existe, n'est pas séparable des agglutinines par précipitation.

DEUXIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES.

1° Nous avons voulu nous rendre compte si le sérum de cobaye typhique ne contient pas de substance qui, se fixant sur les corps microbiens de proteus X 19, supprimerait leur agglutinabilité :

Un tube contenant 2,7 c.c. d'émulsion de proteus X 19, à un milliard de germes par c.c., est additionné de 0,3 c.c. de sérum de *cobaye typhique*.

Dans un 2° tube, on additionne la même quantité de suspension microbienne, de 0,3 c.c. de sérum de *cobaye sain*.

Dans un 3° tube, on mélange 2,7 c.c. de la suspension microbienne, et 0,3 c.c. du *sérum humain normal*.

Dans un 4° tube, on ajoute 0,3 c.c. d'eau physiologique à la même quantité d'émulsion.

Après un séjour de 24 heures à l'étuve, on additionne chacun des tubes de 0,15 c.c. de sérum d'homme convalescent de typhus, agglutinant le X 19 à 1/250.

Après 2 heures d'étuve et un repos de 24 heures à la température du laboratoire, l'agglutination est nette dans tous les tubes.

2° Nous avons renouvelé cette expérience en utilisant, non plus les

sérums totaux, mais leurs portions protéiniques séparées, puis re-combinées en mélanges croisés.

Pour cette épreuve, un sérum d'homme convalescent de typhus, un sérum d'homme normal, un sérum de cobaye guéri de typhus et un sérum de cobaye normal ont été traités par la solution saturée de sulfate d'ammonium. Les solutions de globuline et de sérine, ramenées au même taux de dilution, ont été groupés de la manière suivante :

Tube 1. 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-albumine d'homme typhique et 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-globuline d'homme sain.

Tube 2. 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-albumine d'homme typhique et 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-globuline de cobaye normal.

Tube 3. 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-albumine d'homme typhique et 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-globuline de cobaye typhique.

Tube 4. 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-albumine d'homme sain et 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-globuline d'homme typhique.

Tube 5. 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-albumine d'homme sain et 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-globuline de cobaye sain.

Tube 6. 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-albumine d'homme sain et 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-globuline de cobaye typhique.

Tube 7. 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-albumine de cobaye typhique et 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-globuline d'homme sain.

Tube 8. 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-albumine de cobaye typhique et 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-globuline d'homme sain.

Tube 9. 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-albumine de cobaye typhique et 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-globuline de cobaye normal.

Tube 10. 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-albumine de cobaye normal et 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-globuline d'homme typhique.

Tube 11. 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-albumine de cobaye normal et 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-globuline d'homme sain.

Tube 12. 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-albumine de cobaye normal et 0,5 de solution à 1/10^e de sérum-globuline de cobaye typhique.

Tous les mélanges, contenant le sérum-globuline d'homme typhique, agglutinent le X 19 (tube 4, tube 8, tube 10), même en présence de sérum-albumine de cobaye typhique ou de cobaye sain.

SCHEMA DES MELANGES EFFECTUES ET DES RESULTATS OBTENUS

TUBES					RÉSULTATS
1. Sérine humaine typhique..	globuline humaine normale	—	—	—	0
2.....	—	globuline cobaye normal	—	—	0
3.....	—		globuline cobaye typhique	—	0
4. Sérine humaine normale..	—		—	globuline humaine typhique	+
5.....	—	globuline cobaye normal	—	—	0
6.....	—	—	globuline cobaye typhique	—	0
7. Sérine de cobaye typhique	globuline humaine normale	—	—	—	0
8.....	—	—	—	globuline humaine typhique	+
9.....	—	globuline cobaye normal	—		0
10. Sérine de cobaye normal..	—	—	—	globuline humaine typhique	+
11.....	globuline humaine normale	—	—		0
12.....	—	—	globuline cobaye typhique		0

L'expérience ci-dessus a été renouvelée en prolongeant pendant 24 heures le contact entre le sérum agglutinant et les protides du sérum de cobayes, tant typhiques que normaux. Les résultats ont été rigoureusement les mêmes.

Par conséquent, le proteus X 19 conserve, en présence du sérum de cobayes normaux ou typhiques, son agglutinabilité. La présence des mêmes sérums de cobayes ne diminue en rien le pouvoir aggluti-

nant des sérums des autres espèces animales. Il n'existe donc, dans le sérum de cobaye, aucune substance empêchante, susceptible de masquer la réaction.

4° Le plasma des cobayes typhiques est sans action sur une suspension de proteus X 19

Le *cobaye N 97*, inoculé de virus mondial, est saigné de 10 c.c. de sang, par ponction cardiaque, le jour de la défervescence : le sang est recueilli dans des tubes paraffinés et immédiatement centrifugé : le plasma surnageant est recueilli et mis en contact avec une suspension de proteus X 19. Nous ne constatons aucune agglutination.

Le *cobaye L 46*, inoculé du virus murin de Toulon, est ponctionné de 10 c.c. de sang que l'on recueille dans un tube paraffiné. Le plasma est dépourvu de toutes propriétés agglutinantes vis-à-vis du X 19.

Le *cobaye C 258* est inoculé de virus mondial et ponctionné le jour de la défervescence; son sang est citraté et immédiatement centrifugé : le plasma n'agglutine pas le X 19.

5° Avec le sang complet, l'agglutination du proteus X 19 est négative

Dans des tubes à hémolyse, on dispose des doses croissantes d'une émulsion de X 19 à 1 milliard de germes par c.c.; par exemple : 10 gouttes, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 500 gouttes.

On saigne les animaux par ponction cardiaque et on laisse tomber immédiatement 1 goutte de sang dans chacun des tubes que l'on agite. Après 2 heures d'étuve et 24 heures de repos à la température du laboratoire, les hématies se sont déposés et l'on peut facilement lire le taux d'agglutination.

Le *cobaye N 97*, virus mondial = pas d'agglutination.

Le *cobaye L 46*, virus murin = pas d'agglutination.

Le *cobaye C 2*, virus mondial = pas d'agglutination.

Le *cobaye C 258*, virus murin = pas d'agglutination.

A titre de comparaison, nous avons effectué des réactions d'agglutination avec le sang complet du lapin C 298, préparé contre le proteus X 19, et du lapin C 256, inoculé de virus typhique; l'agglutination est positive à un taux identique à celui qui est obtenu avec le sérum, à savoir :

Lapin C 298 = + 2.000.

Lapin C 256 = + 100.

6° La pulpe de rate des cobayes typhiques fournit les mêmes résultats négatifs

Levaditi et Cantacuzène [66] constatent que, dans les affections typhoïdiques, les anticorps, avant de diffuser dans le sérum des malades, se trouvent localisés dans la rate; on pouvait supposer que, chez le cobaye typhique, les anticorps non décelables dans le sang, existent dans les organes de défense; il n'en est rien.

Les rates des cobayes mexicains 58, 59, 67, sont finement broyées dans un mortier en présence de sable stérile; la pulpe obtenue est émulsionnée dans de l'eau physiologique, à raison de 9 parties d'eau pour une de rate fraîche. Cette suspension est divisée en trois tubes :

1° Le premier est centrifugé un quart d'heure à 5.000 tours; le liquide surnageant, décanté, est additionné d'une suspension de X 19 : résultat négatif.

2° Le deuxième tube est laissé 24 heures dans la glacière, l'émulsion centrifugée; on effectue une réaction de Weil et Felix qui est négative.

3° Le troisième tube est abandonné 48 heures à la glacière, le liquide est filtré d'abord sur papier, puis sur bougie Chamberland L 2; le liquide rosé, clair, n'agglutine pas le proteus X 19.

Des expériences identiques sont effectuées sur des rates de cobayes inoculés du virus historique : les mêmes résultats négatifs sont obtenus.

II. — MODIFICATIONS HUMORALES PROVOQUÉES IN VIVO CHEZ LE COBAYE

1. — Le sérum des cobayes, inoculés de sang de cobaye, puis de typhus, est dépourvu de tout pouvoir agglutinant vis à vis du proteus X 19

Le *cobaye C 46* reçoit, dans la cavité péritonéale, 6 c.c. de sang de cobaye sain et 2 c.c. d'une suspension de cerveau du cobaye Toulon C 13. Après une incubation de 5 jours, le cobaye fait une fièvre qui dure 12 jours; ponctionné le premier jour d'apyrexie, son sérum est dépourvu de tout pouvoir agglutinant vis-à-vis du proteus X 19.

Le *cobaye C 47* reçoit, dans la cavité péritonéale, 6 c.c. de sang citraté de cobaye et la suspension de cerveau du cobaye Toulon C 13. Incubation 5 jours, fièvre 9 jours entrecoupée de chutes brusques de température; ponctionné à la défervescence, son sérum n'agglutine pas le proteus X 19.

2. — Les cobayes, d'abord saignés, puis inoculés de typhus, ne produisent pas d'anticorps décelables par la réaction de Weil et Felix

On prélève, par ponction cardiaque, 10 c.c. de sang au cobaye C 44. Immédiatement après cette opération, il est inoculé, dans la cavité péritonéale, avec le cerveau du cobaye Toulon C 13.

Incubation : 6 jours; fièvre : 9 jours. L'animal est ponctionné au premier jour d'apyrexie : réactions de Weil et Felix négative.

Le *cobaye C 45* est également ponctionné au cœur; on lui retire 9 c.c. de sang et on l'inocule dans le péritoine avec le cerveau du cobaye Toulon C 13.

Incubation : 7 jours; une brusque hypothermie nous oblige à le ponctionner le 14^e jour de l'inoculation : résultat négatif.

3. — Les cobayes, inoculés avec les leucocytes d'un autre animal, ne répondent pas à l'infection typhique par la formation d'agglutinines anti-Proteus

Par ponction cardiaque, on prélève, chez un lapin sain, 30 c.c. de

sang que l'on citrate et que l'on centrifuge fortement; le sang se sépare en trois couches : une, inférieure, constituée par les hématies; une, supérieure, constituée par le plasma et une couche intermédiaire, très légèrement grisâtre, constituée par les globules blancs. Avec une fine pipette on prélève la mince couche leucocytaire; c'est cette couche leucocytaire qui est injectée dans le péritoine des cobayes suivants :

Le *cobaye C 38* reçoit, le même jour, dans la cavité péritonéale, le broyat de cerveau du cobaye Toulon C 20 et la couche leucocytaire de 30 c.c. de sang citraté d'un lapin sain. L'injection de globules blancs est répétée tous les 5 jours.

Après une légère élévation (40°6), la température redevient normale pendant les 9 jours d'incubation : la fièvre dure 6 jours. Le cobaye est ponctionné le 17^e jour de l'inoculation : son sérum n'agglutine pas le proteus X 19.

Le *cobaye C 39* reçoit, en même temps, le virus murin de Toulon (Cobaye C 20) et la couche leucocytaire de 30 c.c. de sang citraté d'un lapin normal; l'animal reçoit 4 injections de globules blancs, espacées chacune de 5 jours : une fièvre de 9 jours, entrecoupée par une chute brusque de la température au 4^e jour, fait suite à une incubation de 6 jours : son sang est recueilli par ponction cardiaque, il est dépourvu de tout pouvoir agglutinant vis-à-vis du proteus de Weil et Felix.

4. - Les cobayes, inoculés avec du sérum humain, puis de typhus, ne donnent pas la réaction de Weil et Felix

Le *cobaye C 239* reçoit journellement, pendant 9 jours, une injection sous-cutanée de 1 c.c. de sérum humain prélevé aseptiquement et dépourvu de tout pouvoir agglutinant vis-à-vis du proteus X 19; inoculé du virus Toulon, il fait une infection inapparente (le cobaye 75, témoin, fait un typhus net : incubation 7 jours, fièvre 8 jours).

Le sérum du cobaye C 239, prélevé au 15^e jour de l'inoculation, a un pouvoir agglutinant nul vis-à-vis du X 19.

Le *cobaye C 279* reçoit, pendant 10 jours, une injection quotidienne de 1 c.c. de sérum humain sous la peau.

Inoculé avec le cerveau du cobaye Tunis C 264, il fait une fièvre de 7 jours après 12 jours d'incubation; son sérum, prélevé par ponction cardiaque au premier jour d'apyrexie, est dénué de toute propriété agglutinante vis-à-vis du proteus X 10.

5. — Le blocage du système réticulo-endothélial ne favorise pas l'apparition de la réaction de Weil et Felix chez le cobaye typhique

Quoique l'expérience paraisse paradoxale, nous avons cherché à savoir quelle serait la réponse de l'animal à l'infection typhique en paralysant les organes de défense.

1 c.c. d'encre de Chine pour bactériologie est dilué dans 20 fois son volume d'eau physiologique. Cette solution est stérilisée à l'autoclave pendant 20 minutes à 120°.

Le *cobaye C 40* reçoit 1/5^e de cerveau du cobaye Toulon C 20 et, en même temps, 1 c.c. de la solution d'encre de Chine dans le ventricule gauche; 3 jours plus tard, on lui injecte dans le cœur 1 c.c. de la même solution, puis 0 c.c. 5 tous les 3 jours.

L'animal après une incubation de 9 jours, fait une fièvre de 4 jours; il est très affaibli; très amaigri; ponctionné le premier jour d'apyrexie, on recueille 5 c.c. de sang qui, après coagulation, laissent 4 c.c. 5 de sérum. Ce dernier, mis en contact avec une suspension de proteus X 19, est dépourvu de tout pouvoir agglutinant.

Le *cobaye C 44*, suivant le même protocole d'expérience, reçoit le 1/5^e de cerveau du cobaye Toulon C 20 et plusieurs injections intracardiaques d'encre de Chine à 1/20^e.

Incubation 9 jours; fièvre 3 jours; à la défervescence, il est ponctionné : anémie, perte considérable de globules rouges, le sérum représente les 9/10^e du sang total. La réaction de Weil et Felix est négative.

6. — Effets de l'inoculation au cobaye typhique de divers tissus animaux

*(Rapports entre la séro-réaction de Weil et Félix
et l'antigène de Forssman)*

Forssman [18], en lui inoculant des organes de cobaye sain (foie, poumon et surtout rein), constate que le lapin produit des hémolysines pour les globules rouges de mouton; ces anticorps, on les nomme anticorps hétérophiles ou anticorps de Forssman. Plus tard, on a vu que le cobaye n'était pas le seul à posséder cet antigène dans ses

lissus; les tissus d'autres animaux tels que le cheval, chien, chat, tortue, etc..., déterminent des hémolysines anti-mouton chez le lapin; par contre, les émulsions d'organes de lapin, de rat, de bœuf ou de pigeon ne contiennent pas l'antigène de Forssman; aussi a-t-on créé deux groupes : le groupe du cobaye qui comprend les animaux dont les organes contiennent l'antigène de Forssman, et le groupe lapin, qui englobe les animaux dont l'injection des organes ne produit pas d'anticorps hétérophiles.

Il est curieux de constater que l'antigène de Forssman se trouve différemment distribué; on le rencontre chez la poule pas chez le pigeon; les souris l'ont, il manque chez le rat, etc... Les hommes sont également partagés en deux groupes : le groupe cobaye qui comprend les hommes du groupe sanguin II et IV, et le groupe lapin auquel appartiennent les hommes du groupe I et III.

Mais les hommes et les animaux ne sont pas seuls à posséder l'antigène de Forssman; les bactéries le possèdent également et il s'y trouve distribué aussi curieusement que chez le monde animal : ainsi, quelques bacilles typhiques contiennent l'antigène de Forssman, d'autres pas; le bacille de Goertner, quelques para B font partie du groupe cobaye, d'autres para B appartiennent au groupe lapin. On rencontre l'antigène de Forssman dans le bacille de Shiga [12], la bactérie charbonneuse [7]; il est inexistant dans le bacille du colon, le vibron cholérique.

La connaissance de l'antigène de Forssman présente une importance, tant au point de vue pratique qu'au point de vue théorique.

Friedberger et Hartoch avaient montré que le cobaye était très sensible à l'injection du sérum de lapin anti-mouton. Ce pouvoir toxique peut être expliqué par la découverte de l'antigène de Forssman et l'on peut dire que les sérums à anticorps hétérophiles sont toxiques pour les animaux qui contiennent dans leurs tissus l'antigène de Forssman.

En hygiène, même, on trouve une application pratique de la découverte de Forssman; lorsqu'on veut s'assurer que des conserves alimentaires ne contiennent pas de viande de cheval, de chien, etc..., une réaction de fixation du complément suffit pour mettre en évidence la présence d'antigènes de Forssman qui sont résistants à la cuisson.

Il est curieux de constater, en ce qui concerne la distribution de

l'antigène de Forssman chez les espèces animales, qu'on retrouve à peu près la même division pour ce qui concerne la réaction de Weil et Felix.

D'après Schmidt [56], appartiennent au groupe du cobaye les espèces animales suivantes :

Cobaye, mouton, chèvre, poule, cheval, chameau, chien, chat, faisan, autruche, dinde, baleine, tortue, carpe, brochet, anguille, tanche, crapaud, souris.

Et à celui du lapin :

Lapin, bœuf, chevreuil, cerf, singe, porc, oie, pigeon, rat, coucou, hibou, faucon, hareng, morue, blatte.

Il est important de noter que, d'une part, les espèces animales qui ne possèdent pas l'antigène de Forssman répondent à l'inoculation du virus typhique par la formation d'agglutinines anti-proteus, à savoir, le lapin, le singe, le rat et que, d'autre part, le cobaye et la souris, possédant l'antigène hétérogénétique, ne produisent pas d'agglutinines anti-proteus lorsqu'ils sont inoculés de typhus.

Une exception, cependant, en ce qui concerne le chien; cet animal, quoique possédant l'antigène de Forssman, agglutine le X 19 lors de l'infection typhique.

Des auteurs, avant nous, avaient pensé à une relation étroite entre le manque d'agglutinines chez le cobaye typhique et la présence de l'antigène hétérogénétique: Hishikawa [20] étudie comparativement l'infection typhique du cobaye et celle du lapin; « la différence présentée par les deux espèces, dit-il, n'est qu'apparente; le cobaye produit, lui aussi, des agglutinines pour le proteus X 19 au cours de l'infection typhique, mais elles sont absorbées par les protides du cobaye; il y a communauté de propriétés antigéniques entre celles-ci et le virus typhique, ainsi que le proteus X 19. On réussit, en effet, d'une part à produire des agglutinines pour le proteus X 19 en traitant le lapin par de l'émulsion de cervelle de cobaye et d'autre part à absorber partiellement avec une telle émulsion les agglutinines pour le proteus X 19, présentes dans le sérum de lapin infecté de typhus.

Amzelowna [1] reprend ces travaux, qui tendent à prouver que le

proteus X 19 renferme un antigène hétérologue commun avec l'antigène de Forssman; à la suite d'expériences précises, il conclut que :

1° L'inoculation des organes de cobaye au lapin ne détermine pas d'agglutinines anti-proteus X 19.

2° Aucune trace d'hémolyse n'apparaît à la suite de l'injection de X 19.

3° Aucune absorption des agglutinines anti-proteus n'a lieu en présence des organes de cobaye.

4° Les sérums humains avec réaction de Weil et Felix positive ne se rencontrent jamais plus hémolytiques que les sérums normaux.

Les rapports entre la négativité de la réaction de Weil et Felix chez le cobaye typhique et la présence de l'antigène de Forssman dans les tissus de cet animal ont été étudiés par nous dans les expériences suivantes :

1^{re} EXPÉRIENCE :

Un cobaye sain est saigné à blanc par ponction cardiaque. On prélève aseptiquement les 2 reins, les capsules surrénales, la rate et la moitié du foie; tous ces organes sont finement broyés dans un mortier stérile et passés à travers une toile métallique; on entraîne la pulpe au moyen d'eau physiologique stérile : on centrifuge l'émulsion ainsi obtenue. On lave le résidu plusieurs fois au moyen d'eau salée, jusqu'à ce que toute trace de trouble disparaisse. Puis la fine suspension est injectée à raison de 0 c.c. 50 dans la cavité péritonéale du lapin C 287; on répète l'injection 4 fois en 20 jours en augmentant, chaque fois, la dose initiale de 0 c.c. 50. Saigné par ponction cardiaque, le sérum est dépourvu de tout pouvoir agglutinant vis-à-vis du proteus X 19.

2^e EXPÉRIENCE :

Le lapin 383 reçoit, dans le péritoine, le 1/10^e d'une culture de X 19 âgée de 24 heures, chauffée 1 heure à 65°; puis, tous les 3 jours, 1 c.c. de la même émulsion microbienne dans la veine marginale de l'oreille. Dix jours après la 5^e injection, on le saigne; son sérum agglutine le X 19 à 1/1.000^e mais il est totalement dépourvu de propriétés hémolytiques vis-à-vis des globules rouges de mouton.

En ce qui concerne ces 2 expériences, nous sommes pleinement en accord avec Amzelowna, à savoir, d'une part, que l'inoculation d'or-

ganes de cobaye au lapin ne détermine pas, chez ce dernier, la formation d'agglutinines anti-proteus et, d'autre part, que le sérum de lapin, préparé avec une culture de X 19, est dénué de tout pouvoir hémolytique vis-à-vis des globules rouges de mouton.

3^e EXPÉRIENCE :

Des organes, reins, capsules surrénales, foie, rate de cobaye sain, finement broyés et passés à travers un tamis à fines mailles, sont mis en contact avec un sérum humain agglutinant le proteus X 19 à 1/6.000^e

A titre de contrôle, nous mettons à macérer dans le même sérum :

a) Les organes du cobaye C 258, guéri du typhus murin de Toulon : incubation 7 jours, fièvre 10 jours; ces organes sont broyés et passés à travers les mailles d'un tamis fin.

b) Les organes du cobaye C 265, inoculé de virus Toulon, incubation : 7 jours, sacrifié au 2^e jour de fièvre.

c) Les organes d'un lapin sain, broyés et passés à travers un tamis.

Tous ces mélanges sont placés à la glacière; après 36 heures de contact, on centrifuge fortement; les agglutinations, effectuées avec le proteus X 19, fournissent les résultats suivants :

Sérum pur.....	+ 6.400
Sérum + organes du cobaye C 258.....	+ 6.400
Sérum + organes du cobaye C 265.....	+ 6.400
Sérum + organes de lapin sain.....	+ 6.400

Après un séjour de 2 semaines à la glacière :

Sérum pur.....	+ 6.400
Sérum + organes du cobaye C 258.....	± 3.200
Sérum + organes du cobaye C 265.....	± 3.200
Sérum + organes de lapin sain.....	± 3.200

Après un séjour d'un mois à la glacière :

Sérum pur.....	+ 6.400
Sérum + organes du cobaye C 258.....	+ 800
Sérum + organes du cobaye C 265.....	+ 800
Sérum + organes de lapin sain.....	+ 800

Nous constatons donc qu'après un certain temps, les agglutinines anti-proteus sont partiellement absorbées par les organes de cobaye sain et de cobaye typhique; mais cette propriété n'est pas spécifique; elle est commune même aux animaux ne possédant pas l'antigène de Forssman.

4° EXPÉRIENCE :

Nous avons réalisé cette dernière expérience *in vivo*.

Deux cobayes, C 68 et C 69, reçoivent chacun dans la cavité péritonéale, 2 c.c. 5 du sérum 14 (sérum de convalescent, agglutinant le X 19 à 1/10.000°).

Les témoins de cette expérience étaient constitués par 2 rats, rat R et rat B, et par les lapins C 70 et C 71.

Les 2 rats reçoivent dans le péritoine, 1 c.c. du sérum 14 et les lapins 8 c.c. du même sérum humain.

On saigne les animaux par ponction cardiaque, après 3 h., 8 h., 24 h., 60 h., 100 h., 150 h., 200 h., 250 h., et 300 heures.

La dose de sérum 14 injectée a été choisie comme représentant très approximativement le 1/10° de la quantité de sang chez les animaux; 25 c.c. chez le cobaye, 10 c.c. chez le rat, 80 c.c. chez le lapin.

RÉSULTATS :

Nous constatons d'abord que la diffusion du sérum humain dans le tissu sanguin est très rapide chez le rat (agglutination à + 500 après 3 heures), plus lente chez le cobaye et le lapin (+ 50 après 3 heures); chez le rat, le taux d'agglutination reste le même pendant 24 heures puis tombe très rapidement après 60 heures (+ 50), pour devenir nul 150 heures après l'inoculation (cf. schéma).

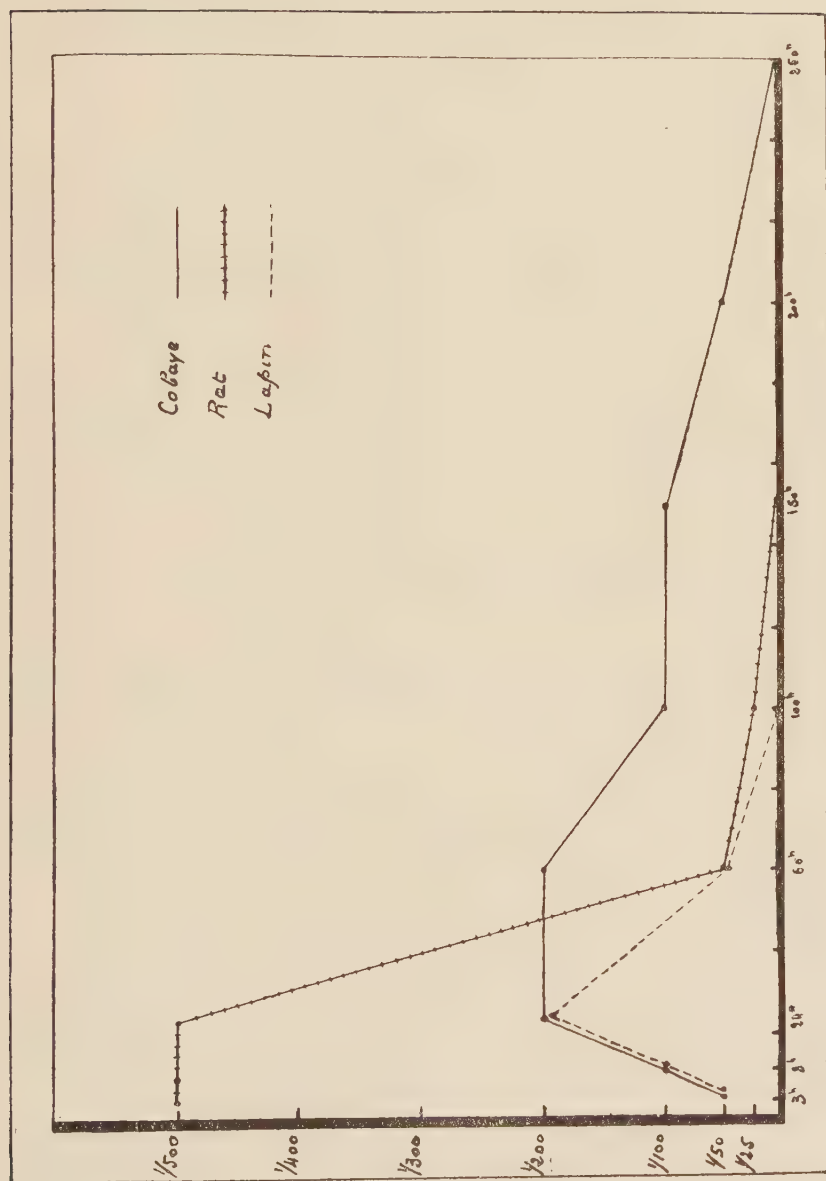
La différence entre ces 2 animaux et le cobaye réside dans le fait que ce dernier conserve plus longtemps dans son sang des agglutinines anti-proteus X 19. Cette présence peut s'expliquer par le fait que le cobaye produit lentement les anticorps et que la formation d'anti-agglutinines est moins rapide que chez le lapin ou le rat.

In vivo, nous ne constatons donc pas d'absorption d'agglutinines anti-proteus par les tissus du cobaye.

5° EXPÉRIENCE :

Nous mélangeons à parties égales le sérum du lapin C 256, inoculé du virus historique et agglutinant le proteus X 19 à + 100, avec le sérum du lapin C 287, possédant des anticorps hétérophiles de Forssman et dont le pouvoir hémolysant pour les globules de mouton se manifeste à la dilution du 1/300°.

Le témoin est constitué par le sérum du lapin C 256 dilué au 1/2 avec de l'eau physiologique.



Résultats de la 4^e expérience (schéma)

RÉSULTATS :

Sérum du lapin C 256 dilué au 1/2.....	= + 50
Sérum du lapin C 256 + sérum du lapin C 287.....	= + 50

6° EXPÉRIENCE :

Le *lapin C 286* reçoit, en même temps, 1/2 cerveau virulent du cobaye Toulon C 276 et 1 c.c. d'une suspension d'organes de cobaye sain; l'inoculation d'organes de cobaye est répétée 3 fois en 15 jours; saignée; l'agglutination est positive à + 50 et le sérum manifeste ses propriétés hémolytiques vis-à-vis des érythrocytes de mouton à la dilution du 300°.

Le *lapin C 287* reçoit, en 15 jours, 4 injections intrapéritonéales de pulpe d'organes de cobayes sains; saigné le 20^e jour il hémolyse les globules de mouton à la dilution du 1/300°; il est dépourvu de toute propriété agglutinante vis-à-vis du proteus X 19.

Inoculé avec le virus murin de Toulon, il agglutine le X 19 à ± 100 au 18^e jour de l'inoculation.

Le témoin est constitué par le lapin C 288, inoculé de virus murin de Toulon (cobaye S 276); saigné le 20^e jour de l'inoculation, son sérum agglutine le proteus X 19 à ± 50 .

Nous constatons, par conséquent, que l'inoculation d'organes de cobaye — antigène de Forssman — détermine chez le lapin typhique la production d'anticorps hémolytiques vis-à-vis des érythrocytes de mouton; d'autre part, nous constatons que le lapin, préparé contre les globules de mouton par inoculation d'organes de cobaye sain, produit des agglutinines anti-proteus X 19 lorsqu'il est ensuite inoculé de typhus.

De ces recherches, il résulte les faits suivants :

L'inoculation d'organes de cobaye sain ne détermine pas, chez le lapin, d'agglutinines anti-proteus X 19.

L'inoculation de proteus X 19 ne favorise pas la formation d'hémolysines pour les globules rouges de mouton.

In vitro, les agglutinines anti-proteus, après un temps de contact assez long, sont partiellement absorbées par les organes de cobaye : mais cette propriété se retrouve également chez les animaux ne possédant pas l'antigène de Forssman dans leurs tissus.

In vivo, non seulement nous ne constatons pas d'absorption d'ag-

glutinines, mais c'est chez le cobaye qu'elle subsistent le plus longtemps, en prenant comme termes de comparaisons le lapin et le rat.

L'addition de sérum de lapin, possédant des anticorps hétérophiles, à un sérum de lapin typhique, ne gêne pas les propriétés agglutinantes de ce dernier vis-à-vis du proteus X 19.

Que l'on s'adresse à un lapin typhique ou à un lapin sain, l'injection d'organes de cobaye détermine toujours des hémolysines pour les érythrocytes de mouton: d'autre part, l'inoculation de cerveau virulent détermine, chez le lapin sain comme chez le lapin possédant des anticorps hétérophiles, des agglutinines pour le proteus X 19.

En conclusion, bien que dans le monde animal on puisse retrouver une similitude entre l'absence de l'antigène de Forssman et la formation d'agglutinines anti-proteus, nous pouvons affirmer que cet antigène hétérogénétique ne conditionne pas la négativité de la réaction de Weil et Felix chez le cobaye, expérimentalement infecté de virus typhique.

7. — Essais de stimulation des agglutinines

Ramon et Zoeller [30] ont signalé que le pouvoir anti-toxique des sérums se montre notablement plus élevé quand on injecte au sujet, en même temps que l'anatoxine diphtérique, soit son propre sang, soit la sérosité d'un vésicatoire. Davesne a montré qu'on peut augmenter le taux d'agglutination d'un sérum, chez le lapin, en inoculant à cet animal de la peptone, du sang, ou du sérum: le fait le plus frappant est dû à Ramon qui a utilisé les « antigènes au tapioca ». Le tapioca, mélangé, *in vitro*, aux anatoxines diphtérique ou tétanique, les absorbe en se gonflant; lorsque les antigènes au tapioca sont injectés au cheval, leur résorption est suivie d'une réaction locale et d'une légère réaction générale qui favorisent au maximum la production d'anticorps.

Nous nous sommes inspiré de ces travaux pour stimuler la formation d'agglutinines chez le cobaye typhique.

A) PAR L'INOCULATION AU COBAYE DE CORPS MICROBIENS NON SPÉCIFIQUES.

a) Le cobaye C 238 reçoit, en 10 jours, 5 injections d'une suspension très

dense de bacilles paratyphiques B, tués par l'iode; 7 jours après la dernière injection, le cobaye reçoit 1/10^e de cerveau virulent dans la cavité péritonéale; il fait un typhus net avec une incubation de 8 jours et une fièvre de 12 jours; saigné au premier jour de l'apyrexie, l'agglutination du proteus X 19 est nulle.

b) Le *cobaye C 237* reçoit, en même temps, 1/5^e de cerveau virulent et 4 c.c. de la même suspension de bacilles paratyphiques B, le tout dans la cavité péritonéale; il fait un peu de température pendant les 2 jours qui suivent l'inoculation; l'incubation dure 6 jours, la fièvre 7 jours; ponctionné à la défervescence, nous ne constatons aucun pouvoir agglutinant de son sérum.

B) PAR INJECTION DE LAIT.

2 cobayes reçoivent le virus murin de Toulon (cerveau du cobaye C 33), et, tous les 2 jours, pendant 12 jours, 1 c.c. de lait stérilisé, en injection sous-cutanée.

Le *cobaye C 54*, dont la température dès le lendemain monte à 41°2 puis revient à 39°4, reste en incubation pendant 11 jours; la fièvre dure 5 jours; ponctionné à la défervescence, son sérum est dépourvu de tout pouvoir agglutinant vis-à-vis du proteus X 19.

Le *cobaye C 55*, après une incubation de 12 jours, fait une fièvre de 4 jours; à la défervescence, il est ponctionné : agglutination nulle.

C) PAR L'INJECTION DE TAPIOCA.

Le tapioca du commerce est pulvérisé dans un mortier, puis stérilisé au four Pasteur à 180° pendant une demi-heure; on laisse macérer pendant 24 heures, 4 gr. de cette poudre dans 10 c.c. d'eau physiologique stérile :

1/10^e de cerveau virulent est trituré au mortier de manière à obtenir une pulpe homogène, puis dilué au moyen de 10 c.c. de la suspension de tapioca; le tout est injecté dans la cavité péritonéale du cobaye C 249. Après une incubation de 7 jours et une fièvre de 7 jours, le cobaye est ponctionné le premier jour de la défervescence : la réaction de Weil et Felix est négative.

Le *cobaye C 45* reçoit 1/5 de cerveau du cobaye Tunis C 12 et la suspension de tapioca. Après 5 jours d'incubation, il fait une fièvre qui dure

4 jours; ponctionné à l'apyrexie, son sérum est dépourvu de propriétés agglutinantes vis-à-vis du proteus X 19.

Le *cobaye C 16* reçoit, dans la cavité péritonéale, les mêmes doses de virus et de tapioca : incubation 5 jours, fièvre 5 jours; ponctionné le 11^e, le 15^e et le 20^e jours de l'inoculation, son sérum n'agglutine pas le X 19.

Le *cobaye C 17* reçoit le 1/5^e de cerveau du cobaye Tunis C 12 et 10 c.c. de la suspension de tapioca : incubation 10 jours, courbe fébrile très nette d'une durée de 7 jours; ponctionné à la défervescence et 5 jours plus tard : réaction négative.

Le *cobaye C 18* reçoit les mêmes doses de virus et de tapioca dans le péritoine, puis pendant les 8 jours suivants 2 c.c. de la suspension de tapioca et le 1/20^e du cerveau congelé du cobaye Tunis C 12, en injection sous-cutanée.

Suivi jusqu'au 25^e jour, l'animal ne fait pas d'infection fébrile (l'épreuve d'immunité n'a pas été effectuée). Ponctionné les 15^e, 20^e et 25^e jours de l'inoculation, la réaction de Weil et Felix a toujours été négative.

Dans cette dernière expérience, la réaction de Weil et Felix n'a pas été franchement négative. Dans les tubes de réaction, nous avons toujours constaté, avec le sérum des animaux inoculés de tapioca et de virus typhique, un dépôt microbien à la dilution du 1/25^e et quelquefois de 1/50^e. Ce dépôt, par agitation du tube, était remis en suspension et se reformait après un repos de 3 à 4 heures à la température du laboratoire. Nous n'avons jamais constaté de phénomène semblable avec les sérums de tous les cobayes typhiques que nous avons examinés.

8. — L'hypercholestérolémie provoquée ne favorise pas la formation d'anticorps,

décelables chez le cobaye typhique par la réaction de Weil et Felix

Au cours de toutes les intoxications (alcool, anesthésiques), comme au cours de la plupart des infections [7], on sait que l'hypercholestérolémie témoigne de la réaction de l'organisme; nous avons voulu nous rendre compte si l'augmentation expérimentale du taux de cholestérol sanguin chez le cobaye typhique, ne favoriserait pas la formation d'agglutinines anti-proteus X 19.

Hector Diacono [9] a remarquablement étudié l'hypercholestérolémie dans ses effets sur l'hémolyse, la résistance globulaire et l'image sanguine du cobaye;

« La cholestérolémie, obtenue par injection d'huile cholestérolée, écrit-il, n'a rien de bien marquant. Il se forme des indurations aux points d'inoculation, qui semblent démontrer que l'absorption du liquide se fait mal. Au contraire, par ingestion d'huile cholestérolée, le taux de cholestérol atteint, dans le sérum, des proportions inattendues. Ce procédé représente à nos yeux une méthode de choix pour obtenir une cholestérolémie expérimentale ».

La technique consiste à fournir, en supplément dans l'alimentation journalière des animaux, une ration de 10 c.c. d'huile d'olive neutralisée et lavée à l'alcool, cholestérolée à 2 gr. 5 %. Cette huile est incorporée à la ration de son (60 gr. pour 2 cobayes), habituellement donnée.

Le taux normal de cholestérol sanguin varie, chez le cobaye, entre 0 gr. 28 et 0 gr. 45 par litre de sérum.

Le *cobaye C 295* est soumis au régime son, huile cholestérolée; peu de carottes, peu d'herbage.

Il est saigné 18 jours plus tard; taux de cholestérol sanguin : 1 gr. 72 par litre de sérum.

Inoculé avec le cerveau du cobaye Tunis C 282, il fait une fièvre de 7 jours précédée d'une incubation de 10 jours. Ponctionné à la défervescence, son sérum est dépourvu de tout pouvoir agglutinant vis-à-vis du proteus X 19.

Le *cobaye C 296* est soumis au même régime alimentaire. Le taux de cholestérol sanguin est de 2 gr. 97 par litre de sérum après 18 jours de régime.

Il est inoculé avec le cerveau du cobaye Tunis C 282 : incubation 9 jours, fièvre 6 jours.

Au premier jour d'apyrexie il est saigné par ponction cardiaque : réaction de Weil et Felix négative.

9. — L'ingestion de lait et l'injection de tapioca déclanchent chez le cobaye typhique, l'ébauche d'une réaction de Weil et Felix positive

Nous savons, par Hector Diacono, qu'une ration alimentaire cons-

tituée par de l'orge a pour effet d'exercer un action inhibitrice plus ou moins accusée sur l'ensemble du complexe hémolytique. C'est une preuve manifeste de l'action de la nourriture sur les réactions humorales de l'animal.

Or, le cobaye, dès sa naissance marche et s'essaye à manger; il était intéressant de voir si le manque presque total d'alimentation lactée n'était pas chez lui une des causes de la négativité de la réaction de Weil et Felix.

Deux cobayes sont soumis au régime lacté, c'est-à-dire que chacun d'eux reçoit, pour sa ration journalière, 10 gr. de lait complet en poudre, mélangé à 20 gr. de son, le tout additionné de quelques c.c. d'eau; les 10 gr. de lait représentent 80 c.c. de lait frais.

Après 15 jours de cette alimentation lactée, ils reçoivent dans la cavité péritonéale le virus typhique (cerveau du cobaye Tunis C 32) et 4 c.c. d'une suspension de tapioca.

Le *cobaye C 24*, après une incubation de 5 jours, fait une fièvre qui dure 9 jours; son sang est prélevé par ponction cardiaque au premier jour d'apyrexie.

Surtout à la dilution du 1/25^e, nous constatons un dépôt microbien dense; l'agglutination n'est pas franchement nette, le liquide surnageant est clair, limpide, le tube témoin reste trouble.

Le *cobaye C 25*, après une incubation anormale de 3 jours et une fièvre de 11 jours, fait une hypothermie brusque; l'animal est ponctionné.

Nous constatons dans le phénomène de l'agglutination le même dépôt, surmonté d'un liquide clair, limpide.

En résumé, il semble qu'une alimentation lactée, aidée d'une stimulation des agglutinines par injection de tapioca, détermine, chez le cobaye typhique, l'ébauche d'une agglutination.

**10. — Inoculés de virus dans le cœur
et de tapioca dans le péritoine,
les cobayes typiques produisent de légères agglutinines
vis à vis du X 19**

4 cobayes reçoivent, dans le ventricule, 2 c.c. d'une suspension centrifugée du virus de Tunis et 10 c.c. d'une suspension très dense de tapioca dans la cavité péritonéale.

Cob. R 15, incubation 9 jours, fièvre 8 jours, est ponctionné à la défervescence; son sérum agglutine très nettement le X 19 à la dilution du 1/25^e.

Cob. R 16, incubation 9 jours, fièvre 6 jours, est ponctionné; son sérum n'agglutine pas le X 19.

Cob. R 41, incubation 6 jours, fièvre 5 jours; son sérum agglutine légèrement le X 19 à 1/10^e.

Cob. R 42, incubation 6 jours, fièvre 4 jours; son sérum agglutine le X 19 à la dilution du 1/10^e.

**11. — Les cobayes hypercholestérolés
produisent des agglutinines anti X 19
quand ils sont infectés par voie cardiaque
et inoculés dans la cavité péritonéale
avec une suspension dense de tapioca**

Les cobayes R 50, R 52, R 53 et R 56 sont mis pendant 12 jours au régime son et cholestérol, puis inoculés dans le cœur avec une suspension centrifugée de cerveau du cobaye Tunis R 16 et, dans le péritoine, avec une suspension dense de tapioca.

Le *cobaye R 50*, après 10 jours d'incubation, fait une fièvre de 5 jours; ponctionné à la défervescence, son sérum agglutine le X 19 à la dilution de 1/25^e.

Le *cobaye R 52*, incubation 9 jours, fièvre 7 jours, agglutine le X 19 à 1/25^e.

Le *cobaye R 53*, incubation 5 jours, fièvre 6 jours, n'agglutine pas le proteus X 19.

Le *cobaye R 56*, incubation 8 jours, fièvre 8 jours, agglutine le X 19 à 1/10^e.

Il est à remarquer que l'injection intrapéritonéale de doses massives de tapioca, en suspension aqueuse, n'est pas toujours bien supportée par l'animal; nous avons eu à déplorer jusqu'à 60 % de mortalité chez les cobayes mis en expérience; tous sont morts de péritonite suppurée, en général due au bacille du colon.

En résumé, dans des conditions expérimentales déterminées, on peut faire apparaître, chez le cobaye, des agglutinines anti-proteus au cours du typhus expérimental.

CONCLUSIONS

De l'ensemble de ces recherches, il résulte que :

I. — La réaction de Weil et Felix, c'est-à-dire la séro-agglutination du bacille *Proteus*, positive chez l'homme et chez les animaux typhiques, est négative chez le cobaye, infecté de typhus dans les conditions ordinaires de l'expérimentation. Nous avons vérifié ce fait connu en utilisant plusieurs virus exanthématiques différents.

II. — Le cobaye est parfaitement apte à produire des agglutinines anti-proteus : il en donne la preuve, lorsqu'on l'inocule de cultures de ce microbe. On ne s'explique pas, dans ces conditions, qu'il ne réponde pas comme les autres animaux, par la production d'agglutinines anti-proteus, lorsqu'on l'infecte de typhus.

III. — Nous avons utilisé toutes les voies possibles pour les inoculations virulentes. Dans quelques cas, l'inoculation intracardiaque a paru suivie d'une légère ébauche de pouvoir agglutinant antipro-téique. Par toutes les autres voies, on obtient l'infection typhique du cobaye, mais la réaction de Weil et Felix reste négative.

IV. — Nous avons modifié, de toutes les manières possibles, sans aucun résultat, l'état physico-chimique des suspensions de bacille proteus, utilisées pour la réaction (chauffage, lyse, fragilisation, alcalinisation, action de diverses substances telles que le tanin). Nous avons tenté de modifier les caractères biologiques eux-mêmes du microbe et nous avons constaté, en particulier, qu'une souche de bacille proteus, passée plusieurs fois par l'organisme du cobaye typhique, tout en restant agglutinable par les sérums des autres espèces animales, ne devient nullement sensible à l'action du sérum des cobayes typhiques.

V. — Nous avons essayé de déterminer ce qui, dans le sérum des cobayes typhiques, pouvait s'opposer à la réaction. La négativité de celle-ci n'est pas due à l'absence d'une substance spéciale, préexis-

tant exclusivement dans les autres espèces. Elle n'est due, non plus, à l'intervention d'une substance empêchante.

VI. — De toutes les modifications qu'il a été possible de faire subir aux sérums *in vitro* (chauffage, remplacement du sérum par le plasma, par le sang total, etc.), aucune n'a influencé le résultat de la réaction.

VII. — Les agglutinines anti-protéiques, absentes du sang du cobaye typhique, n'existent pas non plus dans les organes hématopoiétiques de cet animal. Elles ne sont remplacées, chez lui, par aucun anticorps, décelable soit par les réactions de précipitation, de floculation ou de déviation du complément, soit encore par les épreuves d'agglutination, effectuées en présence d'autres bactéries n'appartenant pas au groupe des proteus.

VIII. — Parmi les modifications humorales qu'on peut faire subir au cobaye, *in vivo*, la plupart sont inopérantes : la réaction de Weil et Felix reste négative chez le cobaye typhique après saignée, après blocage du système réticulo-endothélial, après inoculation d'un sang étranger, après inoculation de leucocytes ou de tissus animaux divers. Sur ce dernier point, il ressort de nos recherches qu'il n'y a pas de relation de cause à effet entre la présence de l'antigène hétérogénétique de Forssman et la négativité de la réaction de Weil et Felix chez le cobaye.

IX. — Une stimulation par les injections de tapioca, par exemple, n'est pas capable, à elle seule, de faire apparaître les agglutinines spécifiques chez le cobaye typhique. Il en est de même de l'alimentation lactée, de l'hypercholestérolémie expérimentale qui, à elles seules, ne constituent pas des conditions suffisantes pour modifier la réaction de Weil et Felix. Mais, si on combine ces divers facteurs, on obtient des résultats tous différents : en inoculant par voie intracardiaque le typhus à des cobayes hypercholestérolémiques et stimulés, en même temps, par une injection de tapioca, nous avons vu la réaction de Weil et Felix devenir positive.

X. — Les taux d'agglutination, observés dans les conditions qui viennent d'être précisées, correspondent à des pouvoirs agglutinants faibles, mais manifestes. Il reste encore à chercher les moyens d'obtenir, par une technique plus perfectionnée, un pouvoir agglutinant aussi élevé chez le cobaye que chez les autres animaux typhiques. Toutefois, le fait essentiel est acquis, à savoir que le comportement exceptionnel du cobaye vis-à-vis de la réaction de Weil et Felix n'était qu'une apparence. D'ores et déjà, on ne peut plus dire que cette épreuve, dont la valeur diagnostique est considérable, reste irréductiblement négative chez le cobaye, animal de choix pour l'étude du typhus; et, ainsi, le principal argument qu'on pouvait encore dresser contre la spécificité de la réaction de Weil et Felix, disparaît.

RÉFÉRENCES

1. R. AMZELOWNA. — **1924**. *Med. Dosur. ispol.*, t. **III**, p. 201 (in *Bull. Inst. Pasteur Paris*, 1925, XXIII, p. 314).
2. J. A. ARKWRIGHT et A. FELIX. — **1930**. *A systeme of Bacteriology in relation to Medicine*, Vol. **VII**, Ch. XXXIV, p. 414.
3. H. BRAUN. — **1918**. *Berlin Klin. Woch.*, p. 637.
4. H. BRAUN. — **1920**. *Zschr. f. Allg. Physiol.*
5. Et. BURNET, P. DURAND et D. OLMER. — **1928**. *C. R. Académie des Sciences*, t. **CXXXVII**, p. 117.
6. CALMETTE, BOQUET et NÈGRE. — **1933**. *Manuel technique de Microbiologie et de Sérologie* (Masson, 3^e édition).
7. COMBIESCO, STAMATESCO, NESTORESCO et ADAM. — **1930**. *Archives Roumaines de Pathol. expérim. et de Microbiol.*, t. **III**, p. 241.
8. G. E. DAVIS et R. R. PARKER. — **1932**. *Public. Healt Rep.*, Wash., t. **XLVII**, p. 1511.
9. H. DIACONO. — **1933**. *Le phénomène hémolytique. Contribution à l'étude de l'hémolyse* (Aloccio, Tunis).
10. DIETRICH. — **1916**. *Deutsche Mediz. Woch.*, t. **XLII**, p. 1570, (in *Bull. Inst. Pasteur Paris*, 1921, XIX, p. 673).
11. R. DOERR. — **1921**. *Zbl. Bakt. abt. I. Origin.*, t. **LXXXV**, p. 2, (in *Bull. Inst. Pasteur Paris*, 1921, XIX, p. 673).
12. M. VON EISLER. — **1931**. *Zeitschr. f. Immunit.*, t. **LXXIII**, p. 37.
13. E. EPSTEIN et G. MORAWETZ. — **1917**. *Wien. Klin. Woch.*, p. 399, (in *Bull. Inst. Pasteur Paris*, 1917, XV, p. 593).

14. A. FELIX. — **1933**. *Trans. of the Royal Soc. of Tropical Med. and Hyg.*, t. **XXVI**, p. 365.
15. A. FELIX. — **1930**. *A système of Bacter. in relation to Medicine*, Vol. **VII**, Typhus Fever.
16. A. FELIX. — **1933**. *Trans. of the Royal Soc. of Tropical Med. and Hyg.*, t. **XXVII**, n° 2, p. 147.
17. A. FELIX et M. RHODES. — **1931**. *The Journal of Hyg.*, t. **XXXI**, n° 2.
18. J. FORSSMAN. — **1911**. *Biochem. Zeitschr.*, t. **XXXVII**, p. 78.
19. R. HAMBURGER et R. BAUCH. — **1917**. *Deutsche Mediz. Woch.*, t. **XLIII**, p. 1.130, (in *Bull. Inst. Pasteur Paris*, 1918, XVI, p. 222).
20. T. HISHIKAWA. — **1922**. *Zeitchr. f. Hyg.*, t. **XCVII**, p. 450.
21. J. LAIGRET et R. DURAND. — **1933**. *Archives Inst. Pasteur de Tunis*, t. **XXII**, p. 499.
22. J. LAIGRET et R. DURAND. — **1934**. *C. R. Soc. de Biologie*, t. **CXVI**, p. 119.
23. A. LEMIERRE. — **1934**. *La Presse Médicale*, n° **14**, p. 265.
24. LISBONNE et CARRÈRE. — **1919**. *C. R. Soc. de Biologie*, t. **LXXXII**, p. 568.
25. K. F. MAXCY. — **1929**. *Publ. Health Rep. Washington*, t. **XLIV**, 589.
26. K. F. MAXCY. — **1929**. *Publ. Health Rep. Washington*, t. **XLIV**, p. 1.735.
27. H. MOOSER. — **1928**. *Arch. Schiffs u. Tropenhyg.*, t. **XXXII**, p. 261.

28. H. MOOSER. — **1928.** *J. Infect. Diseases*, t. **XLIII**, p. 244.
29. H. MOOSER. — **1929.** *J. Infect. Diseases*, t. **XLIV**, p. 486.
30. NATTAN-LARRIER. — **1931.** *Traité de Microbiologie*, Vol. I (Doin et C^{ie}).
31. M. H. NEILL. — **1917.** *Pub. Health Rep. Washington*, t. **XXXII**, p. 1.105, (in *Bull. Inst. Pasteur Paris*, 1918, XVI, p. 218).
32. Ch. NICOLLE. — **1933.** *Soc. de Path. Exotique*, t. **XXVI**, p. 316.
33. Ch. NICOLLE. — **1932.** *Archives Inst. Pasteur de Tunis*, t. **XXI**, p. 32.
34. Ch. NICOLLE. — **1909.** *C. R. Acad. des Sciences*, t. **CIL**, p. 157.
35. Ch. NICOLLE et C. COMTE. — **1910.** *Archives Inst. Pasteur de Tunis*, t. **III**, p. 117.
36. Ch. NICOLLE et C. COMTE. — **1910.** *Bull. Soc. Path. Exotique*, t. **III**, p. 214.
37. Ch. NICOLLE et E. CONSEIL. — **1925.** *Archives Inst. Pasteur de Tunis*, t. **XIV**, p. 355.
38. Ch. NICOLLE et J. LAIGRET. — **1932.** *Archives Inst. Pasteur de Tunis*, t. **XXI**, p. 251.
39. Ch. NICOLLE et J. LAIGRET. — **1933.** *Archives Inst. Pasteur de Tunis*, t. **XXII**, p. 36.
40. Ch. NICOLLE et Ch. LEBAILLY. — **1919.** *C. R. Acad. des Sciences*, t. **CLXVIII**, p. 800.
41. M. NICOLLE, JOUAN et DEBAINS. — **1918.** *C. R. Soc. de Biologie*, t. **LXXXI**, p. 839.
42. A. ORTICONI. — **1920.** *Bull. Soc. Path. Exotique*, t. **XIII**, p. 108.

43. P. PAPAMARKU. — **1917.** *Berlin Klin. Woch.*, p. 647, (in *Bull. Inst. Pasteur Paris*, 1918, XVI, p. 225).
44. H. PINKERTON. — **1929.** *J. Inf. Diseases*, t. **XLIV**, p. 337.
45. H. PLOTZ, P. K. OLITZKI et G. BAEHR. — **1915.** *J. Inf. Diseases*, t. **XVII**, p. 1.
46. RABINOWITSCH. — **1913.** *Munch. Med. Wschr.*, t. **LX**, p. 2451.
47. J. REICHENSTEIN. — **1917.** *Deutsche Mediz. Woch.*, t. **XLIII**, p. 554, (in *Bull. Inst. Pasteur Paris*, 1917, XV, p. 594).
48. H. T. RICKETTS et R. M. WILDER. — **1910.** *J. Amer. Medic. Assoc.*, t. **LIV**, pp. 463, 1.304, 1.373.
49. H. T. RICKETTS et R. M. WILDER. — **1911.** *J. Amer. Medic. Assoc.*, t. **LV**, p. 309.
50. M. RUBINSTEIN. — **1932.** *Traité pratique de Sérologie et de Séro-diagnostic* (Maloine).
51. H. SACHS. — **1917.** *Deutsche Med. Woch.*, t. **XLIII**, p. 964, (in *Bull. Inst. Pasteur Paris*, 1917, XV, p. 594).
52. H. SACHS. — **1917.** *Deutsche Med. Woch.*, t. **XLIII**, p. 966, (in *Bull. Inst. Pasteur Paris*, 1917, XV, p. 594).
53. F. SCHIFF. — **1917.** *Deutsche Med. Woch.*, t. **XLIII**, p. 1.292, (in *Bull. Inst. Pasteur Paris*, 1918, p. 223).
54. F. SCHIFF et L. ADELBERGER. — **1924.** *Zentralbl. f. Bakt. Paras. u. Infektionskrankh.*, Abt I. Orig. t. **XCIII**, p. 172.
55. F. SCHIFF et NATHORFF. — **1920.** *Zs. chr. f. Imm. Forsch. Orig.*, t. **XXX**, p. 482.
56. H. SCHMIDT. — **1924.** *Die Heterogenetischen hammelblutantikörper und ihre antigene.* Leipzig.

57. J. SEGAL. **1932.** *Presse Médicale*, n° **47**, p. 926.
58. SPENCER et MAXCY. — **1930.** *Publ. Health Rep. Wash.*, t. **XLV**, p. 440.
59. St. et K. STERLING. — **1917.** *Wien. Klin. Woch.*, t. **XXX**, p. 972, (in *Bull. Inst. Pasteur Paris*, 1918, XVI, p. 221).
60. Vl. VITEECK. — **1917.** *Wien. Klin. Woch.*, t. **XXX**, p. 967, (in *Bull. Inst. Pasteur Paris*, 1918, XVI, p. 221).
61. R. WEIGL. — **1923.** *Z. Hyg. Infektk.*, t. **XCIX**, p. 302.
62. R. WEIGL. — **1924.** *Klin. Wschr.*, t. **III**, pp. 1.590, 1.636.
63. R. WEIGL. — **1927.** *Med. Dosw. spol.*, t. **VII**, p. 127.
64. E. WEIL et A. FELIX. — **1916.** *Wien. Medic. Woch.*, 13 juillet, (in *Bull. Inst. Pasteur Paris*, 1918, XVI, p. 219).
65. E. WEIL et A. FELIX. — **1921.** *Z. Immunroesch. Tl. I, Origin.*, t. **XXXI**, p. 457.
66. M. WEINBERG et A. GILBERT. — **1932.** *Traité du sang. Données nouvelles sur le sang*, t. **III** (Baillière et fils).
67. M. J. WILSON. — **1909.** *J. Hyg. Camb.*, t. **IX**, p. 316.
68. M. J. WILSON. — **1910.** *J. Hyg. Camb.*, t. **X**, p. 155.
69. G. WOLFF. — **1917.** *Deutsche Med. Woch.*, t. **XLIII**, p. 1.507 (in *Bull. Inst. Pasteur Paris*, 1918, XVI, p. 223).
70. G. WOLFF. — **1922.** *Zbl. f. Bakt. I, Orig.*, t. **XCIX**, p. 225, (in *Bull. Inst. Pasteur Paris*, 1923, XXI, p. 657).
71. Th. ZLOCISTI. — **1917.** *Z. Klin. Med.*, t. **LXXXVI**, p. 107.
-

VU BON A IMPRIMER ;

Le Président de la Thèse,
COUTIÈRE.

VU :

Le Doyen de la Faculté,
PAUL GUÉRIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLÉTY.

